

THESISTM MUNICH 1966

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

**Die Gonadotropinausscheidung
bei Frauen während und nach Behandlung mit
Östrogenen und Progestagenen**

Heinz-Jürgen Engel



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153516_0047

Aus der 1. Universitätsfrauenklinik und Hebammenschule München
Direktor: Professor Dr. W. Bickenbach
- - - - -

DIE GONADOTROPINAUSSCHIEDUNG
BEI FRAUEN WÄHREND UND NACH BEHANDLUNG MIT
ÖSTROGENEN UND PROGESTAGENEN

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Heinz-Jürgen Engel
München

1966

Berichterstatter: Professor Dr. R. Kaiser
Mitberichterstatter: Professor Dr. W. Bickenbach
Dekan: Professor Dr. R. Zenker
Tag der mündlichen Prüfung: 21. Dezember 1965

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
I. Allgemeiner Teil	2
1. Entdeckung und Produktionsstätten der gonadotropen Hormone	2
2. Physikalisch-chemische Eigenschaften der Gonadotropine	3
3. Biologische Wirkungen der Gonadotropine	5
4. Regulationsprinzipien des Funktionskreises Zwischenhirn-Hypophysenvorderlappen-Keimdrüsen	6
5. Wirkungsweise zugeführter peripherer Hormone im Organismus	8
II. Methodik der Bestimmung von Gonadotropinen im Harn	11
A. Biologische Nachweisverfahren	11
1. Prinzip des biologischen Gonadotropinnachweises	11
2. Angewandtes Verfahren	12
B. Die immunologische Gonadotropinbestimmung	16
1. HCG-Nachweis mit dem Pregnosticon-Test	16
2. Kreuzreaktion von HCG und LH und immunologischer LH-Nachweis	17
3. Präzision, Genauigkeit und Empfindlichkeit	19
4. Anreicherungsverfahren zum immunologischen Gonadotropinnachweis	20
III. Spezieller Teil	22
A. Beispiel der rechnerischen Auswertung des biologischen Tests anhand eines Wiederfindungsversuches	22
B. Tiermaterial, Toxizität und Menge der Extrakte	24
C. Bestimmung der Gonadotropinausscheidung bei Frauen vor, während und nach der Medikation von Oestrogenen und Progestagenen	25

	Seite
1. Die Gonadotropinausscheidung in ovulatorischen Zyklen und unter kombinierter Gabe von Oestro- genen und Progestagenen	25
2. Die Gonadotropinausscheidung unter Langzeit- behandlung mit reinen Progestagenen	28
3. Die Gonadotropinausscheidung unter Oestrogen- Gestagen-Therapie bei vorher endogen erhöhter Ausscheidung	31
4. Die Gonadotropinausscheidung nach Absetzen einer zyklischen Behandlung mit Ovulations- hemmern	33
5. Die Gonadotropinausscheidung während und nach einer Pseudograviditätsbehandlung	34
IV. Diskussion der Ergebnisse	37
V. Zusammenfassung	44
VI. Tabellen und Abbildungen	45
VII. Literatur	63

E I N L E I T U N G

Der Hypophysenvorderlappen bildet, durch das Zwischenhirn humoral stimuliert, gonadotrope Hormone mit drei verschiedenen Wirkungen: follikelstimulierendes Hormon (FSH), interstitialzellstimulierendes Hormon (ICSH) - identisch mit dem Luteinisierungshormon (LH) -, und luteotropes Hormon (LTH), das auch als Prolaktin bezeichnet wird. Die Gonadotropine FSH und LH stimulieren die Ovarien, die ihrerseits durch Produktion von Oestrogenen und Gestagenen den uterinen Zyklus bewirken und auch die Aktivität des Hypophysenvorderlappens über das Zwischenhirn rückbeeinflussen. Gonadotropine und Keimdrüsenhormone regulieren so durch ihre Wechselwirkung in Abhängigkeit von psychischen Einflüssen den normalen Ablauf des vegetativen und generativen weiblichen Zyklus.

Die therapeutische Verabreichung von Sexualhormonen stellt immer einen Eingriff in das Endokrinium dar, dessen Ausmaß durch die Bestimmung der im Urin ausgeschiedenen Hormonmengen teilweise beurteilt werden kann. So gibt die Gonadotropinausscheidung im Harn vor, unter und nach einer Therapie mit Oestrogenen und Gestagenen Aufschluß über die Reaktion der Hypophyse auf diese Therapie. Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dieser Fragestellung, wobei zwei verschiedene Verfahren herangezogen wurden, nämlich:

1. eine biologische Bestimmungsmethode und
2. ein immunologischer Nachweis.

I. ALLGEMEINER TEIL

1. Entdeckung und Produktionsstätten der gonadotropen Hormone

CUSHING 1909 und ASCHNER 1912 (9) vermuteten auf Grund klinischer Krankheitsbilder einen Zusammenhang zwischen Hypophyse und Gonaden und konnten ihre Ansicht durch Hypophysenexstirpation im Tierversuch verifizieren. Später wurde dann durch ASCHHEIM (7) festgestellt, daß die Entfernung der Hypophyse bei Ratten zu einer Involution der primären und sekundären Geschlechtsmerkmale führt und daß diese Involutionerscheinungen durch Verabreichung von Hypophysenextrakten wieder behoben werden können. Der Hypophysenvorderlappen mußte also einen auf die Gonaden gerichteten - gonadotropen - Wirkstoff bilden, der die Geschlechtsfunktion aufrechterhielt und steuerte. 1927 beschrieben ASCHHEIM und ZONDEK (8) die Wechselwirkung zwischen Hypophyse und Ovarium.

FEVOLD (37) gelang es, aus Hypophysengewebe zwei auf die Ovarien biologisch verschieden wirksame Substanzen zu extrahieren, von denen die eine die Reifung des Follikels und die andere die Bildung und Funktion des Corpus luteum bewirken sollte. Die letztere wurde als LH oder wegen ihrer Zwischenzellen stimulierenden Wirkung ICSH bezeichnet, während erstere follikelstimulierende als FSH erkannt wurde. 1941 wurde durch EVANS u. a. (34) als drittes gonadotropes Hormon das Prolaktin isoliert, welches wegen seiner luteotropen Wirkung bei der Ratte als LTH bezeichnet wurde.

Außerhalb der Hypophyse werden Gonadotropine in der Plazenta und unter pathologischen Bedingungen in gewissen teratogenen Tumoren des Hodens und des Ovariums sowie im Chorionepithelium und bei der Blasenmole gebildet.

Als Produktionsstätte des plazentaren Gonadotropins gelten nach Untersuchungen von PHILIPP (97), KIDO (71) und STEWARD (110) die Chorionzotten, und zwar die Langhansschen Zellen. Dieses extrahypophysäre Gonadotropin wird als Human Chorionic Gonadotropin (HCG) bezeichnet. Die Frage, in welchen Zellen des Hypophysenvorderlappens die einzelnen gonadotropen Hormone gebildet werden, konnte bisher noch nicht ganz geklärt werden. Es werden zwei Auffassungen vertreten: Die unitaristische Theorie besagt, daß die gonadotropen Hormone des Hypophysenvorderlappens von einem einzigen Zelltyp gebildet werden. Die verschiedenen färbbaren Granula in diesen Zellen werden von

den Anhängern dieser Theorie (ARON, 6) als Zeichen der unterschiedlichen Reife oder eines wechselnden Funktionszustandes angesehen. Nach der pluralistischen Theorie gibt es dagegen verschiedene Zelltypen von definierter Färbbarkeit, die nicht ineinander übergehen. HERLANT (51) und IGEL (56) nehmen auf Grund morphologischer und histochemischer Untersuchungen an, daß das FSH in den basophilen, das ICSH dagegen von den eosinophilen Zellen gebildet wird. PURVES und GRIESBACH (99) unterscheiden peripher gelegene Zellen mit groben Granulationen und einem hohen Glykoprotein-Anteil, welche für die Sekretion von FSH verantwortlich sein sollen, von den Zellen zentraler Lokalisation, mit feineren Granula und einem geringeren Kohlehydratanteil, denen sie die Produktion von LH zuschreiben.

Neuere Untersuchungen zeigen jedoch die Variabilität der durch Anwendung von Färbemethoden gewonnenen Erkenntnisse über die Hypophysenhistologie. Da die Eiweißkörper von Zytoplasma und Kern auf Grund ihres Ampholytcharakters ein verschiedenes Reaktionspotential gegenüber Farbstoffen haben können, läßt die Affinität zu einem bestimmten Farbstoff nur selten histochemische Rückschlüsse zu (WERTH, 122).

Nach Untersuchungen von v. EICKSTEDT (33) sollen die von der Hypophyse produzierten Gonadotropine zum überwiegenden Teil im reticuloendothelialen System abgebaut und nur zu etwa 6% (JOHNSEN und HAMBURGER, 64) in den Harn ausgeschieden werden. Die chemische Identität der aus Hypophysen und Urin gewonnenen gonadotropen Substanzen ließ sich bisher noch nicht nachweisen, und auch ihre biologischen Wirkungen zeigen keine absolute Übereinstimmung (3). Dennoch lassen sich nach bisherigen Untersuchungen aus der Gonadotropinausscheidung im Urin recht gute Rückschlüsse auf die Produktion gonadotroper Substanzen im Hypophysenvorderlappen ziehen. Allerdings ist gelegentlich mit einer verzögerten Ausscheidung zu rechnen, da die Gonadotropinelimination durch die Nieren größeren Schwankungen unterliegt (APOSTOLAKIS und LORAINÉ, 5).

2. Physikalisch-chemische Eigenschaften und biologische Wirkungen der Gonadotropine

Obwohl es gelungen ist, einzelne gonadotrope Hormone nach biologischen und physikalisch-chemischen Kriterien rein darzustellen, herrscht über ihre Struktur noch keine Klarheit. Gonadotropine sind mit Ausnahme des LTH

Glucoproteide (LI, 78), deren Kohlehydratanteil aus wechselnden Mengen von Hexose und Hexosamin besteht. Die Anzahl der Aminosäuren und ihre Sequenz sind nicht aufgeklärt.

Über eine Methode zur Isolierung und Reinigung von FSH berichteten LI, SIMPSON und EVANS (80) im Jahre 1949, während ICSH schon 1940 in gereinigter Form aus Schafs-, Schweine- und Ochsenhypophysen dargestellt werden konnte (FRAENKEL-CONRAT u. a., 39, LI, SIMPSON und EVANS, 79). Im Gegensatz zu ICSH konnte FSH bisher nur in hochgereinigtem Zustand isoliert werden. Aus Schwangerenham gewonnenes HCG steht nach CLAEISSON (28) bereits in kristallisierter Form zur Verfügung.

Ein Gemisch aus FSH- und LH-Aktivität ist das aus dem Urin von Frauen nach der Menopause gewonnene Human Menopausal Gonadotrophine (HMG) (LORAINE und BROWN, 88, JOHNSEN, 60, BORTH u. a., 14), mit welchem die von nichtschwangeren geschlechtsreifen Frauen, von Männern und Kindern ausgeschiedenen Gonadotropine zumindest in ihrer biologischen Wirkung identisch zu sein scheinen (LORAINE und BROWN, 87, ALBERT u. a., 2).

Die aus dem Urin von nichtschwangeren Frauen, von Männern und Kindern gewonnenen Gonadotropine konnten bisher weder durch Elektrophorese (RIGAS u. a., 103, SCHNEIDER und FRAHM, 105) noch durch papierchromatographische Analyse (SEGALOFF und STEELMAN, 106) in reine FSH- und LH-Komponenten zerlegt werden; die gewonnenen Fraktionen zeigten in verschiedenem Verhältnis stets beide Aktivitäten. Diese Ergebnisse weisen auf die Möglichkeit hin, daß es sich bei den normalerweise vom Hypophysenvorderlappen gebildeten und im Ham ausgeschiedenen Gonadotropinen um eine einheitliche gonadotrope Substanz mit sowohl follikel- als auch interstitialzellstimulierenden Wirkung handeln könnte. Die gonadotropen Komponenten wären nach JOHNSEN (59) und HARRIS (48) als Wirkgruppen an ein gemeinsames Trägermolekül gekoppelt, deren Trennung ein durch die verschiedenen Isolierungsmethoden bedingter Artefakt sein könnte.

Obwohl die Mehrzahl der Forscher auf Grund von biologischen und chemischen Untersuchungen heute noch eine getrennte Produktion beider Hormone annimmt, dürfte es im Hinblick auf unsere bisher noch mangelhaften Kenntnisse der Glucoproteide wenigstens beim Menschen zweckmäßig sein, lediglich von einer FSH- und LH-Aktivität zu sprechen und nicht FSH und LH

als zwei eigene, getrennte Wirkstoffe zu betrachten (DICZFALUSY und HEINRICHS, 30).

Die Ungewißheit über Produktion und Bau der Gonadotropine läßt die Schwierigkeiten bei der Definition eines einheitlichen Standards erkennen, der den Vergleich gonadotroper Aktivitäten von Extrakten aus verschiedenen Laboratorien ermöglichen soll. Der Gonadotropin-Club führte 1953 in Genf als Eichpräparat einen von der Firma ORGANON (Newhouse, Schottland) hergestellten Gonadotropinextrakt aus dem Urin von Frauen nach der Menopause ein, welcher nach LORAINE und BROWN (89) FSH- und LH-Aktivitäten zu gleichen Teilen enthalten soll. Die Aktivität von 1 mg dieses Standards HMG 20A wurde als eine Einheit definiert.

3. Biologische Wirkungen der Gonadotropine

Die Erfolgsorgane der gonadotropen Hormone sind die steroid-produzierenden Drüsenorgewebe des Ovariums und des Hodens, wo Gonadotropine die vegetative Keimdrüsenfunktion mit Steroidhormonproduktion und die generative Keimdrüsenfunktion mit Follikelreifung, Eisprung und Gelbkörperbildung im weiblichen Organismus sowie die Spermiogenese im männlichen Organismus steuern. Es werden in den primären Erfolgsorganen, den Gonaden, unter dem Einfluß der Gonadotropine Sexualhormone produziert, welche auf die sekundären Sexualmerkmale einwirken und in ihnen charakteristische Veränderungen hervorrufen. Die indirekten Gonadotropinwirkungen wie Größenzunahme von Prostata, Samenblase und Uterus werden durch die in den Gonaden produzierten Steroidhormone bewirkt, deren Sekretion in einem gewissen Dosissbereich der Gonadotropinproduktion weitgehend entspricht. Diese Parallelität ist die Voraussetzung für die indirekten Methoden der biologischen Gonadotropinbestimmung.

Die gonadotropen Hormone sind geschlechtsunspezifisch, d. h. bei beiden Geschlechtern wirksam (SMITH, 109). Obwohl chemisch eine gewisse Artspezifität nachzuweisen ist, wirken artfremde Hormone bei Laboratoriumstieren und auch beim Menschen mit großer Wahrscheinlichkeit (KARLSON, 68). Die Daten über die Erfolge von Gonadotropininjektionen oder Hypophysentransplantationen innerhalb der einzelnen Tierklassen zeigen von Art zu Art sehr große Differenzen (WERTH, 122).

FSH entfaltet seine Wirkung grundsätzlich am germinativen Gewebe und be-

wirkt im Ovar Wachstum der Follikel, Reifung von Theka und Granulosa und Bildung der Follikelflüssigkeit, während es im Hoden die Spermio-genese stimuliert. SIMPSON, EVANS und LI (107) fanden im Tierversuch eine FSH-Wirkung erst beim Tertiärfollikel, dessen weiteres Wachstum es verursachen soll. Auch nach BUCHHOLZ (22) und HISAW und ASTWOOD (43) ist für das Wirksamwerden des FSH im Ovar das Vorhandensein von Follikeln mit mindestens zwei Granulosazellschichten Voraussetzung, während die jüngeren Entwicklungsstufen nicht dem Einfluß der Hypophyse unterstehen. Die Stimulierung der östrogenproduzierenden Zellen wird nach neueren Untersuchungen nicht durch FSH-Wirkung allein hervorgerufen, sondern ist das Ergebnis eines FSH-ICSH-Synergismus (3).

ICSH (= LH) hat bei beiden Geschlechtern eine gleichsinnige Wirkung auf das Interstitialzellengewebe der Gonaden. Es regt die Leydig-Zellen des Hodens und das interstitielle Gewebe des Ovars zur Androgenbildung an (DICZFALUSY und HEINRICHS, 30) und löst gemeinsam mit FSH in der Theka interna folliculi die Östrogenbildung aus. Weiterhin ist es an der Progesteronproduktion ursächlich mitbeteiligt; es ist von Bedeutung für die Umwandlung der reifen Follikel in Corpora lutea, indem bei einem bestimmten Mischungsverhältnis von LH zu FSH die Ovulation erfolgen soll (BERSIN, 10), und indem die Granulosazellen durch die Wirkung von ICSH morphologisch in Luteinzellen transformiert werden (BUCHHOLZ, 22).

LTH erhält bei der Ratte Morphologie und Funktion des Gelbkörpers und ist für die Progesteronbildung mitverantwortlich (EVANS, SIMPSON, LYONS und TURPEINEN, 34, OBER, 96). Die LTH-Ausscheidung erfolgt beim Menschen in der zweiten Zyklushälfte (WERTH, 122) und steigt am Ende der Schwangerschaft nach der Geburt stark an. Es löst nach Absinken des während der Schwangerschaft hohen Steroidhormonspiegels die Milchsekretion aus und soll psychisch wirksam sein, indem es Brutinstinkte hervorruft (UFER, 110).

4. Regulationsprinzipien des Funktionskreises Zwischenhirn-Hypophysenvorderlappen-Keimdrüsen

Die zyklischen Vorgänge im Ovarium sind das Ergebnis einer ständigen gegenseitigen Beeinflussung zwischen Hypophysenzwischenhirnsystem und Ovarialfunktion. Diese biologische Regelung erfolgt im Sinne eines geschlossenen Funktionskreises wie ihn nach R. WAGNER (118) die Kybernetik mit dem Prinzip der Rückkopplung fordert. Der physiologische Gleichgewichtszustand wird

nach HOHLWEG (53) durch folgendes Regulationsprinzip aufrecht erhalten: Die vom übergeordneten Hypophysenzwischenhirnsystem sezernierten Gonadotropine veranlassen im Ovarium die Produktion der Steroidhormone, welche hemmend auf das übergeordnete System zurückwirken, so daß ein gleichbleibender Hormonspiegel gewährleistet ist.

Die Keimdrüsenhormone wirken nicht direkt auf den Hypophysenvorderlappen zurück, sondern auf gewisse nervöse Zentren des Zwischenhirnsystems (HOHLWEG und JUNKMANN, 55), welche auf einen bestimmten Sexualhormonspiegel des Blutes eingestellt sind. Je nach Höhe des Keimdrüsenhormonspiegels stimuliert das Zwischenhirn die gonadotrope Funktion des Hypophysenvorderlappens.

Die Hypothese, daß ein Zentrum den Bluthormonspiegel kontrolliert, ließ sich durch Tierexperimente von WESTMANN und JAKOBSON (124), in denen die durch Trennung des Hypophysenstiels zu einer Atrophie der Keimdrüsen führte, sowie durch den Vergleich der Wirkung von intrazerebral und peripher verabreichten Östrogenmengen (HOHLWEG und DAUME, 54) beweisen. Die Untersuchungen von WESTMANN und JAKOBSON (124) schienen zunächst für einen nervösen Übertragungsmechanismus der Impulse des in einer Reihe von Zwischenhirnkernen sowie dem Tuber cinereum gelegenen (WESTMANN, 123, BUSTAMANTE u.a., 26) Sexualzentrums zum Hypophysenvorderlappen zu sprechen. Die Untersuchungen von HARRIS (48) wiesen jedoch auf die wesentliche Bedeutung des Portalgefäßsystems am Hypophysenstiel hin, und die Beobachtung, daß die Keimdrüsen wieder normal zu funktionieren begannen, wenn eine Regeneration der Portalgefäße der Hypophyse an der Stelle der Stieldurchtrennung erfolgt war, sprachen eher für einen neurohormonalen Übertragungsmechanismus über die Portalgefäße der pars tuberalis (48). Auch die Beobachtung, daß die elektrische Reizung des Tuber cinereum - nicht aber des Hypophysenstiels oder des Vorderlappens selbst - beim Kaninchen zum Follikelsprung führt (HARRIS, 48), sowie die an hypophysektomierten Tieren durchgeführte Implantation von Hypophysen in die Gegend des Zwischenhirns (HARRIS und JAKOBSON, 49), weisen auf die Existenz eines neurohormonalen Überträgerstoffes hin. Ein solcher "gonadotropin-releasing factor", welcher dem die ACTH-Produktion steuernden "corticotropin-releasing factor" analog wäre und welchen HOHLWEG (53) durch kombinierte Kulturen von Hypophysen-Zwischenhirngewebe nachzuweisen sich bemühte, scheint jetzt durch die Arbeit von GUILLEMIN (47) bewiesen zu sein.

Das Sexualzentrum im Zwischenhirn darf nicht als autonomes Zentrum ange-

sehen werden. Es ist vielmehr eine Schaltstelle, in der nervöse Reize vom Großhirn und vom vegetativen Nervensystem zusammentreffen und durch Veränderung der Ansprechbarkeit auf Keimdrüsenhormone die Funktion der Hypophyse entsprechend den hormonalen Gegebenheiten reguliert wird (HARRIS, 48). So ist es nicht verwunderlich, daß neben den ausschließlich auf hormoneller Basis beruhenden Rückkoppelungsmechanismen zwischen Ovarium und Hypophyse auch noch nervöse Reflexe zu existieren scheinen, die zu einem komplizierten Zusammenspiel des Endokriniums mit dem Vegetativum und der Psyche führen. So fand WESTMANN (123) auf tierexperimenteller Grundlage den Einfluß eines corticodiencephalen Reflexsystems auf die Hypophysenfunktion, während SKREB (108) die Auswirkungen von Afferenzen aus den Sinnesorganen auf den Zyklus beobachtete. Die Bedeutung psychischer Faktoren geht aus dem Auftreten von Notstandsamenorrhöen (TIETZE, 113) hervor, während durch die Vorverlegung der Ovulation bei Frauen durch Cervixreizung (BIKENBACH u. Mitarb. 11) der Einfluß nervöser Afferenzen auf die Sexualzentren des Hypothalamus und die Hypophysenfunktion nachgewiesen wird.

5. Wirkungsweise zugeführter peripherer Hormone im Organismus

Soweit es für die vorliegenden Untersuchungen von Belang ist, sei kurz auf die Wirkung zugeführter peripherer Sexualhormone eingegangen.

Die aus Tierexperimenten gewonnene Erkenntnis, daß das endokrine System einem Reglermechanismus im Sinne der Kybernetik unterliegt (HOHLWEG, 53), ist auf die Verhältnisse beim Menschen übertragbar. Die Zufuhr peripherer Hormone führt über eine Hemmung der übergeordneten Hypophysenfunktion zu einer Verminderung der endogenen Hormonproduktion im Organismus, wobei die hormonabhängige Drüse (Ovarium oder Hoden) gehemmt wird und atrophiert. Diese Atrophie ist funktionell und im allgemeinen reversibel. Angewendet wird dieses Vorgehen zur hormonellen Kastration von Tieren, z.B. von Hähnen zu Kapaunen (HOHLWEG, 53).

Auf Grund der geschlechtsunspezifischen hemmenden Rückwirkung der Sexualhormone auf die gonadotropen Hypophysenfunktion kann man diese sowohl durch weibliche als auch durch männliche Keimdrüsenhormone bremsen. Da Östrogene, stärker aber noch die neuen progestagen wirksamen Norsteroidoide, die auch eine gewisse virilisierende Wirkung haben, die Gonadotropinsekretion des Hypophysenvorderlappens hemmen (BUCHHOLZ, 21, 25, KAISER und

DAUME, 64), kann durch Zufuhr dieser Substanzen die Ovarialfunktion gedrosselt werden. Die daraus resultierende stark reduzierte endogene Produktion von Östrogenen und Progesteron wirkt sich auch am Uterus, speziell am Endometrium, aus, wenn das zugeführte Hormon diesen Mangel nicht ausgleicht.

Bei der hypohormonalen Amenorrhoe wird durch Zufuhr eines progestativ wirksamen Norsteroids die ovarielle Östrogensekretion so weit gedrosselt, daß das Endometrium als Erfolgsorgan der Östrogene kaum proliferieren kann. Endometrioseherde schrumpfen, und das durch östrogene Proliferation stimulierte Myomwachstum wird gehemmt (FERIN, 36, KAISER und FINK, 65).

Es war seit langem bekannt, daß Östrogene und Progesteron die weitere Reifung eines Follikels und damit die Ovulation verhindern. PINCUS gelang es, die durch Kopulation induzierte Ovulation beim Kaninchen durch vorherige Verabreichung von Progesteron zu hemmen; er stellte weiterhin in Zusammenarbeit mit ROCK fest, daß bei der Frau die kontinuierlich während dreier Monate durchgeführte perorale Behandlung mit Progesteron in Kombination mit Stilböstrol Konzeptionen während dieser Zeit verhinderte (98). Die zyklische Gabe eines Östrogen-Progestagen-Gemisches findet seither eine breite Anwendung zur Ovulationshemmung.

Bei einigen Fällen der vorliegenden Arbeit kam die sog. Zwei-Phasen-Methode (Sequential-Therapie) zur Anwendung, welche in der zyklusgerechten Zufuhr von einem Östrogen ($75 \mu\text{g}$ Aethinyloestradiol) vom 5. - 19. Zyklustag und einem Östrogen-Progestagen-Gemisch (4 mg Aethinylnortesteronazetat und 0,05 mg Aethinyloestradiol = Anovlar) vom 20. - 25. Zyklustag besteht. Diese Methode der Ovulationshemmung wurde unabhängig von GOLDZIEHER (44) und KAISER (63) inauguriert.

Bei einer Uterushypoplasie kann die von KAISER (63) angegebene "Pseudo-gravidität" als Therapie angewendet werden, bei welcher die Gabe kombinierter Ovarialhormone in ansteigender Dosierung einen schwangerschaftsähnlichen Zustand herbeiführt, durch welchen unterentwickelte Uteri einen starken Wachstumsimpuls erhalten. Nach Absetzen der Therapie soll die Hypophyse mit erhöhter Aktivität im Sinne eines Rebound-Phänomens reagieren (UFER, 115), für welches HOHLWEG (53) auf Grund von Tierexperimenten eine Desensibilisierung des Sexualzentrums durch Gewöhnung an einen erhöhten Bluthormonspiegel als Ursache vermutet. Das Rebound-Phänomen

ist durch Hormonausscheidungsuntersuchungen - insbesondere von Gonadotropinen - bei der Frau bis heute jedoch noch nicht einwandfrei bewiesen. Beim Mann wird der Rebound-Effekt zur Steigerung der Hodenfunktion benutzt, indem man die Hypophyse und damit auch Testes zunächst durch eine Hemmtherapie mit Testosteron ruhigstellt, nach Absetzen der Medikation dann aber eine überschießende Regulation der Hypophyse im Sinne einer Stimulierung der Keimdrüsen hervorzurufen versucht.

II. METHODIK DER BESTIMMUNG VON GONADOTROPINEN IM HARN

A. Biologische Nachweisverfahren

1. Prinzip des biologischen Gonadotropinnachweises

Da die Gonadotropinwirkung sich nicht nur auf Testes und Ovarien erstreckt, sondern über eine sekundäre Steroidhormonproduktion der primären Erfolgsorgane auch Uterus, Prostata und Samenblase mit spezifischen quantitativen, mikroskopischen und chemischen Veränderungen reagieren, ergibt sich eine Vielzahl von biologischen Bestimmungsmethoden (DICZFALUSY und HEINRICH, 30). Biologische Nachweisverfahren beruhen auf einem Vergleich der Wirkung einer bekannten Hormonaktivität mit der eines quantitativ unbekannten gleichartigen Extraktes auf die Testorgane.

Zur Testierung dürfen nur hypophysektomierte oder zumindest infantile Tiere Verwendung finden, weil möglichst nur die Wirkung der durch Injektion zugeführten gonadotrop wirksamen Extrakte erfaßt werden soll, ohne daß die von den Tieren selbst produzierten Gonadotropine interferieren und die Ergebnisse verfälschen können. Die hypophysären Gonadotropine sind Proteohormone und werden im Harn nur in geringer Konzentration ausgeschieden. Zum Nachweis müssen sie daher aus dem Harn isoliert und entsprechend konzentriert werden. Dabei muß zur Verminderung der Toxizität ein Reinigungsverfahren folgen. Die Abtrennung inaktiver und toxischer Beimengungen vom aktiven Anteil beruht in den verschiedenen Anreicherungsverfahren im wesentlichen auf den Prinzipien der Adsorption und der Präzipitation oder einer Verbindung beider Verfahren. Zur Präzipitation finden neben Gerbsäure Alkohol und Azeton Verwendung, während Kaolin, Aluminiumhydroxyd, Benzoesäure sowie Tricalciumphosphat als Adsorbentia dienen (30).

Aus der Vielzahl der vorgeschlagenen Extraktionsvorschriften haben sich folgende Verfahren für Routinebestimmungen als brauchbar erwiesen:

1. Alkoholfällungsmethode (ZONDEK, 128, KLINEFELTER u.a., 74)
2. Tanninsäuremethode nach JOHNSEN (57, 58)
3. Ultrafiltration nach GORBMAN (46, 117)
4. Kaolin-Azeton-Methode nach ALBERT (1)
5. Kaolin-Azeton-Methode nach LORAIN und BROWN (88)

Von den genannten Verfahren zeichnet sich die Kaolin-Azeton-Methode nach

LORAINÉ und BROWN wegen der genau einzuhaltenden pH-Werte durch gleichbleibende Resultate aus und wurde in den eigenen Untersuchungen verwendet.

Die Reinigung der Extrakte zur Verminderung der Toxizität erfolgte durch die von LORAINÉ und BROWN (88) modifizierte Tricalciumphosphatmethode nach BUTT und CROOKE (27), welche die klinisch bedeutsame Abtrennung des HCG vom HMG gestattet. Diese Differenzierung wird durch die Tatsache ermöglicht, daß bei pH 7 das HMG des Urins fast vollständig in Lösung bleibt, während HCG an Tricalciumphosphat adsorbiert wird; bei pH 8,3 wird dagegen der Harnextrakt weitgehend entgiftet.

Die so gewonnene gereinigte Substanz enthält ein FSH-LH-Gemisch. Die einzelnen Aktivitäten lassen sich durch spezielle Nachweisverfahren getrennt bestimmen (Zusammenstellung DICZFALUSY und HEINRICHS, 30). In den vorliegenden Untersuchungen wurde die Gesamtaktivität im Maus-Uterus-Test nach LEVIN und TYNDALE (77) bestimmt, der hinsichtlich der FSH- und LH-Wirkung keine Spezifität besitzt, sondern auf einen Synergismus beider Hormone anspricht.

Die durch statistische Auswertung nach BORTH, DICZFALUSY und HEINRICHS (13) errechneten Ergebnisse wurden auf das internationale Standardpräparat HMG 20 A bezogen. Zu diesem Zweck erfolgte bei jeder Testierung ein Parallelversuch mit einem Hausstandard bekannter Aktivität. Nach Bestimmungen von GEIGER (42) entspricht 1 mg des benutzten Hausstandards der Aktivität von 0,52 mg HMG 20 A.

2. Angewandtes Verfahren

a) Anreicherung der Harngonadotropine mit der Kaolinazetonmethode nach LORAINÉ und BROWN (88)

Die Extraktion der Gesamtgonadotropine umfaßt drei Arbeitsgänge:

1. die Adsorption der Hormone an Kaolin bei pH 4,0
2. die Elution der Hormone aus der Kaolinsuspension bei pH 11,3
3. die Präzipitation der Hormone bei pH 5,0

Die Einstellung der pH-Werte erfolgte mittels eines Glaselektroden-pH-Me-

ters. Vor jeder Messung wurde das Gerät mit Pufferlösungen auf den gewünschten Meßbereich geeicht.

Adsorption: Die 48-Stunden-Urinportion wird gemessen und mit 1-normaler HCl auf pH 4 eingestellt. Für je 100 ml Urin werden 2 g Kaolin (Bolus alba der Firma Merck) in 5 ml Aqua dest. suspendiert und dem Harn zugeführt. Diese Kaolin-Urin-Suspension kommt nun 45 Minuten in eine Schüttelmaschine und wird anschließend für mindestens 20 Minuten zum Absetzen des Kaolins in den Kühlschrank gestellt. Nach Absaugen des klaren Überstandes mit einer Wasserstrahlpumpe wird das Kaolin durch Zentrifugieren der verbliebenen Suspension (4000 U/Min., 10 Min.) isoliert.

Elution: Der erhaltene Rückstand wird mit der gleichen Menge destillierten Wassers (5 ml/100 ml Urin) suspendiert und mit 1/10-normaler NaOH auf pH 11,3 eingestellt. Während diese Suspension 20 Minuten stehenbleibt, trennt sich das Gonadotropin vom Kaolin und geht in Lösung. Nach erneutem Zentrifugieren wird der gonadotropinhaltige Überstand mit 1/10-normaler HCl auf pH 5,0 eingestellt.

Präzipitation: Die Lösung wird mit dem 5fachen Volumen Azeton versetzt, wobei das Präzipitat flockig ausfällt. Nach einer halben Stunde im Eisschrank hat sich der Niederschlag weitgehend abgesetzt und wird durch Zentrifugieren vom verbleibenden Azeton getrennt. Anschließend wird das Präzipitat mit 96%igem Alkohol gewaschen, zentrifugiert, dann nochmals mit Äther gewaschen und erneut zentrifugiert. Der Extrakt kommt sodann zur Aufbewahrung in einen Exsiccator über Calciumchlorid.

b) Reinigung des Extraktes nach der Tricalciumphosphatmethode (LORAINE und BROWN, 88)

Der Extrakt wird gewogen und in 20 ml Aqua dest. pro Gramm suspendiert. Die Suspension wird auf pH 8,3 eingestellt und 20 Minuten lang umgerührt, danach 10 Minuten lang bei 4000 U/Min. zentrifugiert. Der unlösliche Rückstand wird nochmals mit 5 ml Aqua dest. 20 Minuten lang gerührt und nach abermaligem Zentrifugieren verworfen. Die beiden Überstände werden vereinigt und pro 25 ml wässriger Lösung mit 4 ml Tricalciumphosphatsuspension nach SWINGLE und TISELIUS (0,07 g Tricalciumphosphat in 1,0 ml Aqua dest., 112) versetzt und unter pH-Kontrolle 15 Minuten lang umgerührt. Das HMG befindet sich jetzt in der Lösung, die durch Zentrifugieren von dem Rückstand getrennt wird.

Die Lösung wird mit 1/10-normaler HCl auf pH 5,0 eingestellt. Mit 5 Volumen Azeton erfolgt dann die Präzipitation. Das Präzipitat wird mindestens für eine halbe Stunde in den Kühlschrank gestellt, zentrifugiert und der Rückstand wieder mit Alkohol und Äther gewaschen. Der Extrakt wird schließlich über Calciumchlorid im Exsiccator getrocknet und dort bis zu seiner Wiederverwendung aufbewahrt.

c) Biologische Testierung nach LEVIN und TYNDALE (77)

Die gereinigten Extrakte werden gewogen und in zwei Hälften geteilt, von denen die eine in einem Vortest zur ungefähren Abschätzung der Aktivität verwendet wird. Im Vortest wird jeweils 2 Mäusen 1/5, 1/10, 1/20 und 1/40 der Tagesmenge injiziert, während der Rest des Extraktes zu einem Haupttest mit nur 2 gezielten Dosen Verwendung findet.

Die in physiologischer NaCl-Lösung aufgelösten Extraktmengen werden den Testtieren an drei Tagen im Abstand von 24 Stunden unter die Rückenhaut gespritzt. Die verwendeten 7 - 10 g schweren infantilen weiblichen weißen Mäuse entstammen einem Inzuchtstamm und sind 20 - 22 Tage alt. 72 Stunden nach der ersten Injektion werden die Tiere mit Äther getötet, gewogen und die Uteri sofort präpariert. Dabei ist es wichtig, die Parametrien mit den Uteringefäßen abzustreifen und die Uteri von anhaftendem Blut und Sekreten zu reinigen. Um Gewichtsveränderungen zu vermeiden, werden die gesäuberten Uteri sofort nach ihrer Präparation gewogen.

Als Gradmesser der gonadotropen Wirkung wurde nicht das relative, sondern das absolute Uterusgewicht zugrundegelegt, da nach Untersuchungen von KELLER (70) bei der verwendeten Gewichtsgruppe kein Zusammenhang zwischen Organ- und Körpergewicht besteht.

d) Statistische Auswertung der Ergebnisse nach BORTH, DICZFALUSY und HEINRICHS (13)

Die Aktivität eines gonadotropen Substrates beim Mäuseuterustest wird mittels der 4-Punkte-Methode (BORTH, DICZFALUSY und HEINRICHS, 13, LINDER, 81) berechnet. Das 4-Punkte-System beruht auf dem Vergleich zweier durch 4 Punkte gegebener Geraden. Zwei Punkte werden dabei durch zwei Dosismengen des Standardpräparats dargestellt, zwei Punkte durch zwei Dosismengen der unbekannten Substanz.

Die Darstellung der Wirkungsabhängigkeit (Uterusgewichtszunahme) von der Injektionsdosis in einem Koordinatensystem ergibt eine S-förmige Kurve (BOUMAN, 15), in der unterschwellige wie auch maximale Dosen kein Verhältnis zur Dosis erkennen lassen. Der kurvenförmige Anstieg ist der zur Auswertung richtige Bereich (BORTH u. a., 13, SUEKIRO, 111); er läßt sich durch logarithmisches Auftragen der Dosen zur sog. Wirkungsgeraden begnadigen. Die Auswertung beruht nun auf einem Vergleich der Wirkungsgeraden des bekannten Präparats (Standard) mit der des unbekannten. Da die getesteten Substanzen sich nur hinsichtlich ihrer Quantität (wie z. B. dem Gehalt an biologisch unwirksamen Bestandteilen), nicht aber in ihrer Qualität unterscheiden, findet sich bei gleichen Aktivitäten ein gleicher Anstieg des Uterusgewichts, und die Wirkungsgeraden verlaufen parallel.

Trägt man in einem Koordinatensystem die Dosisskala in logarithmischem Maßstab als Abszisse und das Organgewicht (Mäuseuterus) als Ordinate auf, so stellt der horizontale Abstand der Geraden (M) den Logarithmus des Aktivitätsquotienten (R) dar. Er ist Ausdruck des Wirkungsverhältnisses der verglichenen Hormonsubstanzen und gibt an, wie weit sich die vermutete Aktivität von der ermittelten unterscheidet. Die vermutete Aktivität ergibt sich aus der Annahme gleicher Wirksamkeit entsprechender Test- und Standard Dosen. Der dabei begangene Irrtum wird durch R korrigiert. Es gilt also:

$$M = \text{Log } R$$

$$R = \text{antilog } M = \frac{\text{ermittelte Aktivität}}{\text{vermutete Aktivität}}$$

$$\text{ermittelte Aktivität} = R \times (\text{vermutete Aktivität})$$

Gültigkeitskriterien, Präzisionsmaße und Vertrauensgrenzen

Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse hängt vom Ausfall der Gültigkeitskriterien ab. Diese betreffen die Regression (Abhängigkeit der Wirkung von der steigenden Dosis), die Parallelität der Wirkungsgeraden und die gleiche Wirkung (von unbekanntem Präparat und Standard). Die Regression wird durch das g-Kriterium von FINNEY (38, BORN, FINNEY und GOODWIN, 12) bestimmt und gilt bei g 1,0 als gesichert. Die t-Werte für Parallelität (t 1) und gleiche Wirkung (t 2) werden mit dem für die jeweilige Versuchsanordnung gültigen Tabellenwerten von FINNEY verglichen, welcher bei 4 Tieren pro Dosisgruppe mit t = 2,18 angegeben ist. Die Ergebnisse dürfen als statistisch gesichert gelten, wenn die errechneten t1- und t2-Werte unter dem Tabellenwert bleiben.

Die Gültigkeitskriterien werden ergänzt durch Angabe des Präzisionsmaßes nach GADDUM (40, 41), welches unabhängig von Versuchsanordnung und Maßeinheit eine Beurteilung der Genauigkeit des methodischen Prozesses ermöglicht. Das Präzisionsmaß wird mit dem Buchstaben λ oder dessen reziprokem Wert $L = 1/\lambda$ angegeben. Exakte Bestimmungen erreichen $\lambda = 0,1$ bzw. $L = 10,0$. λ -Werte über 0,4 bzw. L-Werte unter 2,5 charakterisieren Bestimmungen, die wegen unzureichender Genauigkeit nicht verwendbar sind.

Da die Bestimmungen nur eine Schätzung der wirklichen Aktivität darstellen können, werden die Resultate unter Nennung der Vertrauensgrenzen angegeben, welche ein Irrtumsrisiko von 5% umschließen. Sollen zwei Werte eine statistisch gesicherte Differenz aufweisen, so dürfen sich ihre Vertrauensgrenzen nicht überschneiden.

B. Die immunologische Gonadotropinbestimmung

1. HCG-Nachweis und Pregnosticon

Der immunologische Nachweis von Proteohormonen beruht auf ihrer Eigenschaft, als Antigen zu wirken. Wird Choriongonadotropin über längere Zeit z.B. Kaninchen injiziert, so bilden sie Antikörper gegen HCG. Diese Antikörper können aus dem Serum der sensibilisierten Kaninchen gewonnen und für einen Nachweis von HCG benutzt werden, der durch spezielle serologische Verfahren wie die Komplementbindungsreaktion (BRODY und CARLSTRÖM, 19), die Gel-Präzipitation (McKEAN, 69) oder die Hämagglutinations-Hemmungs-Methode für das bloße Auge sichtbar gemacht werden kann.

Die von WIDE und GEMZELL (126) angegebenen Nachweisreaktion von HCG setzt sich aus zwei von der Serologie her bekannten Methoden zusammen:

1. der Antikörperbindungs- bzw. Ablenkungsreaktion nach LANDSTEINER
2. der indirekten Agglutination nach BOYDEN (18), bei der Erythrozyten, an die ein Antigen künstlich angebracht wurde, durch Serumantikörper agglutiniert werden können.

Diese Reaktion ist am unterschiedlichen Sedimentationsverhalten sog. "agglutinierten" und "nichtagglutinierten" Erythrozyten sichtbar. Speziell vorbehan-

delte mit HCG beladene Hammelerythrozyten wirken als Antigen und können mit gegen HCG gerichteten Antikörpern eine Antigen-Antikörper-Reaktion eingehen, welche allgemein fälschlicherweise als Agglutination bezeichnet wird. Die Hammelerythrozyten setzen sich in diesem Fall als nicht konturierter homogener Belag auf dem hemisphärischen Reagenzglasboden ab. Werden im Test durch Zugabe von HCG die HCG-Antikörper des Serums verbraucht, so können die Hammelerythrozyten mit ihrem HCG keine Antigen-Antikörper-Reaktion eingehen, da keine Antikörper mehr vorhanden sind. Die "Agglutination" wurde verhindert, daher der Name "Agglutination-Inhibition-Reaktion" für diesen Test. Die Hammelerythrozyten, die so keine Antigen-Antikörper-Reaktion eingehen konnten, setzen sich in Form eines scharf begrenzten Ringes auf dem Boden des Reagenzglases ab.

Die von WIDE und GEMZELL (126) angegebene immunologische Schwangerschaftsreaktion wurde hinsichtlich der benötigten Agenzien von der Firma ORGANON (Holland) standardisiert und in Form des Pregnosticon-Testes einer breiten Anwendung zugänglich gemacht. Die Test-Packung enthält die antigen-tragenden Erythrozyten in trockengefrorenem Zustand. Das lyophilisierte Antiserum befindet sich in Ampullen, die bei der Ausführung des Testes als Reagenzglasröhrchen verwendet werden. Neben der Suspensionsflüssigkeit für die Erythrozyten sind in der Packung noch zwei Urinproben enthalten, die je als Muster einer eindeutig positiven oder negativen Reaktion dienen. Die Beobachtung der Reaktion wird durch einen Ampullenhalter mit Spiegelboden ermöglicht.

Bei der Ausführung des Tests geht man zunächst so vor, daß man die Erythrozyten in Pufferlösung suspendiert. Sodann werden 0,1 ml der zu testenden hormonenthaltenden Lösung und 0,4 ml der Erythrozytensuspension in die Ampullen mit trockengefrorenem Antiserum pipettiert. Nach gründlichem Schütteln werden die Gläser mit dem Reaktionsgemisch in dem Ständer an einem erschütterungsfreien Ort aufgestellt, wo die Reaktion nach 1 1/2 Stunden abgelesen werden kann.

2. Die Kreuzreaktion von HCG und LH

Placentares HCG und hypophysäres Gonadotropin reagieren immunologisch über Kreuz mit den entsprechenden Antikörpern, so daß HCG auch mit LH-Antiserum und LH auch mit HCG-Antiserum eine Reaktion eingehen (WIDE,

125, KAIVOLA u.a., 67, BOURDEL und LI, 16, BUTT u.a., 27). Dadurch eignet sich dieser immunologische HCG-Nachweis auch zur Bestimmung hypophysären Hamgonadotropins, wenn ein geeignetes Extraktionsverfahren zur Gewinnung und Konzentrierung der Gonadotropine aus dem Urin angewendet wird (DAUME, KAISER und GEIGER, 29). Diese Kreuzreaktion erklärt auch die Beobachtung, daß in besonders empfindlichen Testanordnungen eine positive Schwangerschaftsreaktion gelegentlich auch bei Frauen in der Mitte des Zyklus und nach der Menopause, also zu Zeiten einer erhöhten Gonadotropinausscheidung, eintreten kann.

Da inaktiviertes HCG seine volle antigene Wirkung beibehält und da immunologisch gleich stark reagierende LH- und HCG-Präparate Unterschiede in ihrer biologischen Aktivität aufweisen, ist ein immunologisch ermittelter Gonadotropingehalt nicht gleichbedeutend mit entsprechender biologischer Aktivität. Der immunologische Gonadotropinnachweis erfaßt das Protein, während der biologische Nachweis seine biologische Wirksamkeit angibt.

Die dem HCG und LH gemeinsamen antigen wirksamen Gruppen erlauben den Nachweis hypophysärer Gonadotropine mit dem Pregnosticontest. Alle Resultate immunologischer Versuche wurden auf das internationale HCG-Standardpräparat bezogen; die immunologische Aktivität von gonadotropen Hormonen hypophysären Ursprungs wurde als HCG-Äquivalent in immunologischen Einheiten angegeben. Als eine immunologische Einheit (IE) gilt definitionsgemäß die immunologische Aktivität von 0,1 mg des HCG-Standardpräparates.

GEIGER (42) führte eine Standardisierung der Testsubstanzen durch, indem er mit HCG-Standard-Substanz Verdünnungsreihen ansetzte. Durch abgestufte Verdünnungen konnte gezeigt werden, daß definierte HCG-Mengen bestimmten Ringgrößen im Pregnosticon-Test entsprechen. Mit abnehmender HCG-Konzentration fanden sich zunächst eine zentrale Scheibe (+++), dann ein kräftig ausgebildeter Ring (++), bei weiterer Verdünnung ein schmaler Ring (+) und schließlich ein dünner Randsaum (-). Die einzelnen Ringdurchmesser sollen nach GEIGER so regelmäßig auftreten, daß sie zur Beurteilung der Reaktion verwertet werden können. Den einzelnen Ringgrößen sind folgende Hormonkonzentrationen zuzuordnen:

++	=	1000 IE/l
+	=	800 IE/l

Zur Berechnung wurde nicht die von WIDE als halbagglutinierte Zwischenstufe angesehene Reaktion + verwendet, sondern die letzte Reaktion ++ einer 1 : 2-Verdünnungsreihe, welche vor der Reaktion + auftrat, weil der Ring eindeutiger zu beurteilen war als die schwach positive Reaktion +.

3. Präzision, Genauigkeit und Empfindlichkeit

WIDE (125) berechnete diese Größen auf Grund seiner Experimente mit Reagenzien, welche denen des Pregnosticon-Tests (ORGANON) entsprechen. Sie dürfen daher auf die immunologischen Bestimmungen der vorliegenden Arbeit angewendet werden.

Die Präzision der Methode kann innerhalb gewisser Grenzen durch die Verkleinerung der Verdünnungsstufen gesteigert werden. Der kleinste Verdünnungsschritt, der nach WIDE zu klar unterscheidbaren Reaktionen führte, war 1,12 : 1 ($\log 1,12 = 0,05$). Bei Verdünnungsstufen von 1 : 2 sollte die Methode also jeweils zu eindeutigen Reaktionsbildern führen. Bei Verdünnungsstufen von 1,26 : 1 fand WIDE Vertrauensgrenzen von 88 - 114% beim Vergleich zweier HCG-Mengen mit jeweils 4 Dosen. Bei Verdünnungsschritten von 1 : 2 (unbekanntes Präparat/Standard = 1 : 2) ergaben sich die Vertrauensgrenzen für $p = 0,05$ von 60 - 166% bei einer Standardabweichung von $\pm 0,106$.

Die Genauigkeit einer Methode gibt an, wie nahe ein analytisches Ergebnis dem wahren Wert kommt; sie wird gewöhnlich durch Wiederfindungsversuche (Recoveries) beurteilt. Entsprechend den Versuchsanordnungen und der Übung und Geschicklichkeit der Laboranten teilte WIDE verschiedene Gruppen ein. Der Durchschnitt der Quotienten von ermittelter Aktivität und tatsächlicher (bekannter) Aktivität zeigte in keiner der Gruppen einen signifikanten Unterschied von 1, d.h. die Genauigkeit der Methode ist ca. 100%.

Die Empfindlichkeit einer Methode ist als die geringste durch sie nachweisbare Aktivität festgelegt (84). Die Empfindlichkeit der Agglutinations-Hemmungsreaktion kann durch Zugabe von mehr oder weniger Antiserum auf das gewünschte Niveau eingestellt werden. Obwohl eine sehr empfindlich eingestellte Versuchsanordnung den Nachweis von 50 IE/1 (= 0,005 IE/0,1 ml) gestatten würde, ist die Empfindlichkeit des Pregnosticontests wegen seiner Verwendung als "Schwangerschaftstest" auf 0,08 IE HCG/0,1 ml Urin eingestellt.

4. Anreicherungsverfahren zum immunologischen Gonadotropinnachweis

Da die Gonadotropinproduktion der Hypophyse während des normalen Zyklus weit unter der HCG-Sekretion der Placenta in der Schwangerschaft liegt, reicht die Empfindlichkeit des als Schwangerschaftsreaktion gedachten Pregnosticontests zum Nachweis hypophysärer Gonadotropine aus Nativurin nicht aus, sondern macht eine vorherige Konzentration derselben erforderlich.

Zur Herstellung von gonadotrop-wirksamen Extrakten bediente man sich bisher der beschriebenen Kaolin-Adsorptionsmethode nach LORAINÉ und BROWN (88), der Azetonfällung nach WIDE (125) und der Alkoholfällung (ASCHHEIM und ZONDEK, 8, HELLER, 50). In der vorliegenden Arbeit wurde eine Alkoholfällung mit unterschiedlichen Alkoholvolumina und pH-Verschiebung (42, 29) verwendet, welche zu Trockensubstanzen geringer Menge, guter Löslichkeit und hoher Reinheit führt. GEIGER (42) konnte zeigen, daß durch Zugabe von 1 Volumen Alkohol bei pH 11 ein beträchtlicher Niederschlag von Verunreinigungen mit zu vernachlässigender LH-Aktivität entstand, während bei pH 5 und bei Zugabe weiterer 4 Volumen Alkohol ein Niederschlag, der mehr als 96% der Gonadotropine enthielt, resultierte. Es ergibt sich daraus folgende Arbeitsweise:

Erste Fällung: Die Menge des 24-Stunden-Sammelurins wird gemessen; 50 ml werden auf pH 11 eingestellt, 1 Volumen absoluter Alkohol wird zugegeben und das Reaktionsgemisch zum Absetzen des Präzipitats 20 Minuten in den Kühlschrank gestellt. Nach Zentrifugieren (4000 U/Min., 10 Minuten lang) wird das Sediment verworfen.

Zweite Fällung: Der Überstand wird bei pH 5 mit 4 Volumen absolutem Alkohol versetzt. Nach dem Absetzen des Sediments (30 Min. im Kühlschrank) und nach Zentrifugieren wird das aktive Präzipitat mit Alkohol und Äther gewaschen und über Calciumchlorid im Exsiccator getrocknet.

Dann wird die Trockensubstanz in 1 ml Phosphatpuffer (pH 6,4) gelöst, 10 Min. stehen gelassen, zentrifugiert und filtriert. Der so gewonnene Extrakt wird nun auf seine immunologische Aktivität geprüft, indem Verdünnungsreihen mit Phosphatpuffer im Verhältnis 1 : 2 angesetzt und die einzelnen Verdünnungsstufen dem Pregnosticontest unterworfen werden.

Das Röhrchen mit dem unverdünnten Konzentrat erhält die Nummer $n = 0$, die erste Verdünnung $n = + 1$, die zweite $n = + 2$ usw. Wenn das Röhr-

chen mit 0,1 ml der unverdünnten Flüssigkeit ($n = 0$) noch zu keiner positiven Reaktion führte, wurde der Test mit 0,2 ml ($n = -1$) oder sogar mit 0,4 ml ($n = -2$) angesetzt. Für die Berechnung gilt folgende Formel:

$$x \text{ (IE/24 Std.)} = (1/k) \times 2^n \times r \times 1$$

- n = Nummer des Röhrchens mit dem letzten Ring von der zur Berechnung herangezogene Größe
 k = aufgearbeitete Urinmenge in ml
 r = IE/1 bei der zur Berechnung verwendeten Ringgröße
(+ = 800, ++ = 1000, +++ = 1200)
 1 = Menge des 24-Stunden-Urins in l.

Zur Berechnung wurde regelmäßig der letzte Ring von der Größe ++ verwendet, die aufgearbeitete Urinmenge betrug stets 50 ml, so daß $k = 50$ und $r = 1000$ konstante Größen darstellten.

Die geringste nachweisbare Hormonmenge beträgt also bei 1 l Tagesurin, einer Konzentrierung von 50 : 1 und unter Verwendung von 0,4 ml Testlösung:

$$x = (1/50) \times 2^{-2} \times 1000 \times 1 = 5 \text{ IE/24 Std.}$$

III. SPEZIELLER TEIL

A. Beispiel der rechnerischen Auswertung des biologischen Tests anhand eines Wiederfindungsversuches

Recoveries geben Aufschluß über die Genauigkeit einer Methode. Sie zeigen, wie weit ein analytisches Ergebnis mit dem bekannten wahren Wert übereinstimmt und lassen auf die Summe der systematischen Fehler schließen, indem sie die Größe des methodischen Wirkstoffverlusts angeben.

16 mg Hausstandard mit einer Aktivität von 0,52 E HMG 20 A/mg wurden in 1 l eines durch Kochen inaktivierten Harns gelöst. Dieser Modellharn wurde nach der Kaolinazetonmethode (LORAINE und BROWN, 88) aufgearbeitet und ergab nach Reinigung durch das Tricalciumphosphatverfahren 113,5 mg Trockensubstanz. Diese wurde in 8 ml physiologischer NaCl-Lösung gelöst. 3 ml dieses Extraktes wurden durch Zugabe von 3 ml Kochsalzlösung weiter verdünnt, so daß unter der Voraussetzung einer vollständigen Extraktion der gesamten zugefügten Gonadotropinmenge ohne Wirkstoffverlust 1 bzw. 2 mg Hausstandard je ml gelöstem Extrakt enthalten sein sollte. In gleicher Weise wurden 16 mg Hausstandard so gelöst, daß in 1 ml Testlösung 1 bzw. 2 mg des Standards enthalten waren. Je 1 ml der so gewonnenen Extrakte wurde nun an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 4 Tieren pro Dosisgruppe injiziert.

Präparat		Hausstandard		Unbekannt	
Dosis		1 mg	2 mg	1 mg	2 mg
Uterusgewicht in mg	1. M.	14,9	52,0	13,1	24,8
	2. M.	24,1	51,8	8,5	35,2
	3. M.	16,7	42,8	13,3	41,1
	4. M.	17,5	40,3	18,5	40,7
Summe		73,2	186,9	53,4	141,8
Durchschnitt		$S_1 = 18,3$	$S_2 = 46,7$	$U_1 = 13,35$	$U_2 = 35,45$
Spannweite		9,2	11,7	10,0	16,3

$$\begin{aligned} \text{Vergleiche: } U_2 + U_1 &= 48,8 & S_1 + S_2 &= 64,9 \\ U_2 - U_1 &= 22,1 & S_2 - S_1 &= 28,3 \end{aligned}$$

$$\text{Regression E} = 1/2 (U_2 - U_1 + S_2 - S_1) = 25,2$$

$$\text{Aktivitätsunterschied F} = 1/2 (U_1 + U_2) - (S_1 + S_2) = -8,05$$

$$\text{Parallelität G} = (U_2 - U_1) - (S_2 - S_1) = -6,2$$

$$\text{Quotient benachbarter Dosen J} = 2 \text{ mg} / 1 \text{ mg} = 2$$

$$\text{Abstand der Dosislogarithmen I} = \log J = \log 2,0 = 0,301$$

$$\text{Regressionskoeffizient b} = E/I = 83,72$$

$$\begin{aligned} \text{Abst. der Wirkungsgeraden M} &= F/b = -0,09615 \\ &= 0,90385 - 1 \end{aligned}$$

$$\text{Aktivitätsquotient R} = \text{antilog } 0,90385 - 1 = 0,8014$$

$$\begin{aligned} \text{Vermutete Aktivität: } 1 \text{ mg Hausstandard} &= 1/16 \text{ des} \\ &\text{Präparats unbekannter Aktivität} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ermittelte Aktivität: } 1/16 \text{ des Präparats unbekannter Aktivität} \\ &= 0,8014 \times 1 \text{ mg Hausstandard} \end{aligned}$$

Das Präparat unbekannter Aktivität enthält $16 \times 0,8014 \times 0,52 = 6,66$ E HMG 20A. Die 16 mg Hausstandard enthalten $16 \times 0,52 = 8,32$ E HMG 20A. Die Ausbeute des Wiederfindungsversuches beträgt 80%.

Streuungen: Der Faktor zur Schätzung der Standardabweichung aus der Spannweite beträgt bei $n = 4$ Tieren pro Dosisgruppe $f_4 = 0,486$ (FINNEY, 35).

$$\text{Anzahl der Dosisgruppen S} = K + K' = 2 + 2 = 4$$

$$\text{Durchschnittliche Spannweite} = 1/4 (9,2 + 11,7 + 16,3 + 10,0) = 11,8$$

$$\text{Standardabweichung s} = 11,8 \times f_n = 5,73$$

$$\text{Reststreuung } s^2 = 5,73^2 = 32,88$$

$$\text{Freiheitsgrad} = S(n - 1) = 12$$

$$\text{Streuung der Gruppendurchschnitte V} = s^2/n = 32,88 = 8,222$$

$$\begin{aligned} \text{Streuung der Vergleiche A} &= V = V(E) = V(F) = 8,222 \\ V(G) &= 4 V = 32,888 \end{aligned}$$

Streuung des Regressionskoeffizienten $V(b) = V(E)/I^2 = 90,75$

Gültigkeitskriterien

Für den Freiheitsgrad 12 ist der Tafelwert $t = 2,18$ (FINNEY).

$$1. \text{ Regression } g = t^2 \times V(b)/b^2 = 0,0615$$

$$2. \text{ Parallelität } t_1 = G/\sqrt{V(G)} = -0,9078$$

$$3. \text{ Gleiche Wirkung } t_2 = \tau/\sqrt{A} = -2,025$$

Präzisionsmaße $L = b/s = 14,60$

$$\lambda = s/b = 0,0685$$

Vertrauensgrenzen

$$M_{O,u} = M/1-g \pm t/b(1-g) \times \sqrt{A(1-g) + M^2 \times V(b)}$$

$$= -0,10248 \pm 0,08111$$

$$M_O = -0,02137 = 0,97863-1 \quad R_O = 0,9520$$

$$M_u = -0,1836 = 0,8164-1 \quad R_u = 0,6553$$

Obere Vertrauensgrenze $= 0,9520 \times 16 \times 0,52 = 7,92 \text{ E HMG } 20 \text{ A}$

Untere Vertrauensgrenze $= 0,6553 \times 16 \times 0,52 = 5,45 \text{ E HMG } 20 \text{ A}$

Das Ergebnis des Wiederfindungsversuches beträgt 80 (66 - 95) % des wahren Wertes.

B. Tiermaterial, Toxizität und Menge der Extrakte

Zur Testierung wurden stets Mäuse vom Stamm NMRI mit einem Gewicht von 7 - 10 g verwendet. Die Testbedingungen wurden hinsichtlich Temperatur, Licht, Futter und Käfigen konstant gehalten.

Zu den biologischen Testierungen wurden insgesamt 1094 Mäuse verwendet. Trotz Anwendung der von LORAINÉ angegebenen Reinigung der Extrakte zur Verminderung der Toxizität starben im Verlauf der gesamten Untersuchungen 7,9% der Tiere.

Aus 95 48-h-Sammelurinen - insgesamt 127 l Harn - wurden 78 Extrakte für biologische Gonadotropinbestimmungen und 86 Extrakte für immunologische Testierungen hergestellt. 1 l Harn ergab nach Extraktion und Reinigung

durch das von LORAINÉ und BROWN angegebene Verfahren im Durchschnitt 156,7 mg Trockensubstanz. Die Extrakte zeigten keine quantitative Abhängigkeit von der Urinmenge; bei einzelnen Frauen waren sie stets besonders reichlich, bei anderen konstant besonders gering. Auch zeigte sich erwartungsgemäß keine konstante Beziehung der Extraktmenge zur Aktivität.

C. Bestimmung der Gonadotropinausscheidung bei Frauen ohne, unter und nach oraler Medikation von Östrogenen und Progestagenen

Für die Bestimmung der Gonadotropinausscheidung im normalen und durch Östrogen-Progestagen-Kombinationen beeinflussten Zyklus stellten sich teils gesunde Frauen als Versuchspersonen freiwillig zur Verfügung, teils wurden die Untersuchungen an Patientinnen der 1. Universitätsfrauenklinik München durchgeführt, die aus medizinischer Indikation, z.B. bei Endometriose oder bei endogen erhöhter Gonadotropinausscheidung zyklisch und azyklisch mit Hormonen behandelt wurden. Die Hormonbestimmungen erfolgten jeweils aus einem 48-Stunden-Sammelurin mit biologischem und parallel dazu durchgeführtem immunologischem Test. In vielen Fällen wurde im Hormonlabor gleichzeitig die Östrogenausscheidung bestimmt. Diese Werte sind miterwähnt.

Kasuistik

1. Die Gonadotropinausscheidung in ovulatorischen Zyklen und unter kombinierter Gabe von Östrogenen und Progestagenen

Fall 1: M.D., 34 Jahre alt, Menarche im 13. Lebensjahr.

Zyklus regelmäßig 35tägig.

Während eines 35tägigen Zyklus wurde die Gonadotropin- und Östrogenausscheidung vom 18. - 35. Zyklustag bestimmt. In der Gonadotropinausscheidung findet sich zur Zeit des Anstiegs der Basaltemperaturkurve am 22. - 23. Zyklustag ein steiler Gipfel mit 38,4 E HMG 20A/24 Std. bzw. 46,4 IE HCG - Äqu./24 Std., während die größte während des übrigen Zyklus ohne Berücksichtigung der Zeit bis zum 17. Zyklustag nachgewiesene Hormonaktivität im biologischen Nachweis 5,3 E HMG 20A und immunologisch 12,1 IE HCG - Äqu./24 Std. beträgt (Abb. 1). Die mittlere Gonadotropin-Aktivität lag zwischen dem 18. und 34. Zyklustag bei 7,1 E HMG 20A und 14,4 IE HCG -

Äqu./24 Std. Die größte Östrogenausscheidung fand sich zur Zeit des Gonadotropinmaximums am 22. - 23. Zyklustag; sie wurde zu 58 μ g Gesamtöstrogene bestimmt.

Fall 2a: M.S., 23 Jahre alt. Menarche im 12. Lebensjahr, Zyklus im allgemeinen 30tägig.

In einem 35tägigen Zyklus erfolgte die Kontrolle der Hormonausscheidung vom 10. - 23. Zyklustag. Am 19. - 20. Zyklustag erreicht die Gonadotropinkurve einen Höhepunkt von 10,1 E HMG 20A/24 Std. und 58,0 IE HCG - Äqu./24 Std. (Abb. 2). Die restlichen während des Zyklus bestimmten Hormonaktivitäten liegen unter 5,8 E HMG 20A/24 Std. und 14,5 IE HCG - Äqu./24 Std. Die gleichzeitig bestimmten Östrogene steigen am 19.-20. und 21.-22. Zyklustag auf einen Gesamtwert von 25,2 und 30,3 μ g/24 Std. an.

Fall 2b: M.S. Im folgenden Zyklus derselben Versuchsperson wurde eine Hormontherapie nach der Sequential-Methode durchgeführt, d.h. es wurden vom 6. - 20. Zyklustag täglich 75 μ g Äthinylöstradiol und vom 21. - 26. Zyklustag täglich 4 mg Äthinyltestosteronacetat und 0,05 mg Äthinylöstradiol (Anovlar) verabreicht.

Die Gonadotropinausscheidung wurde vom 4. - 26. Zyklustag bestimmt. Während dieser Zeit liegt die biologische Aktivität zwischen nicht meßbaren Werten und 4,8 E HMG 20A/24 Std., während die immunologischen Bestimmungen unter 22,5 IE HCG - Äqu./24 Std. liegen.

Abb. 2 zeigt einen deutlichen Gipfel der biologisch und immunologisch gemessenen Gonadotropinausscheidung am 19. - 20. Zyklustag des unbehandelten Zyklus; unter der Hormonmedikation ist ein weniger als halb so hoher Gipfel der biologischen Gonadotropinwerte am 12. - 13. Zyklustag erkennbar, während die immunologisch im Verlauf sonst nicht meßbaren Werte am 22. - 23. Zyklustag einmalig halb so hoch wie im ovulatorischen Gipfel des unbehandelten Zyklus liegen. Unter der Sequential-Therapie ist die mittlere Gonadotropinaktivität biologisch von 4,3 auf 3,0 E HMG 20A und immunologisch von 19,3 auf 6,2 IE HCG - Äqu./24 Std. gesenkt (Tab. 3, 4).

Fall 3: K.N., 23 Jahre alt. Menarche im 15. Lebensjahr, Zyklus unregelmäßig 28tägig.

Die Gonadotropine wurden während zweier aufeinanderfolgender Zyklen bestimmt, von denen der erste (3a) einen Zyklus nach Absetzen einer mehrmonatigen Einnahme von 0,05 mg Äthinyloestradiol und 2,5 mg Äthinyl-nortestosteronazetat vom 5. - 24. Zyklustag darstellt, während im zweiten (3b) die Gonadotropinausscheidung unter erneuter Verabreichung von 2,5 mg Äthinyl-nortestosteronazetat und 0,05 mg Äthinyloestradiol (Etalontin) bestimmt wurde.

Der erste Zyklus vom 5.1. - 13.2.1964 wies gegenüber der vermuteten Länge von 28 Tagen eine Dauer von 38 Tagen auf. Die Ovulation dürfte am 24. Zyklustag stattgefunden haben, da die Basaltemperaturkurve am 25. Zyklustag einen Anstieg um 0,5 Grad aufweist. Die Gonadotropine wurden zwar nur vom 5. bis zum 24. Zyklustag bestimmt, jedoch darf in Übereinstimmung mit der Basaltemperaturkurve angenommen werden, daß es sich bei dem Wert von 32,2 E HMG 20A/24 Std. bzw. 12,0 IE HCG - Äqu./24 Std. am 23. - 24. Zyklustag um den ovulatorischen Gipfel handelt. Während des zweiten Zyklus vom 13.2. - 10.3.1964 wurden vom 5. - 25. Tag 2,5 mg Äthinyl-nortestosteronazetat und 0,05 mg Äthinyloestradiol (Etalontin) täglich gegeben. Die Ausscheidung gonadotroper Hormone wurde vom 9. - 27. Zyklustag bestimmt. Während dieser Zeit lag die größte biologisch bestimmte Aktivität am 9. und 10. Zyklustag bei 5,2 E HMG 20A/24 Std., während die immunologischen Bestimmungen am 19. - 20. Zyklustag 15 IE HCG - Äqu./24 Std. bei in der übrigen Zeit nicht meßbaren Werten von unter 4,0 IE HCG - Äqu./24 Std. ergaben. Die Medikation von Etalontin bewirkte eine Senkung der durchschnittlichen Gonadotropinexkretion von 7,5 auf 3,1 E HMG 20A/24 Std. und von 10,3 auf 3,6 IE HCG - Äqu./24 Std.

Die drei unbehandelten nach der Basaltemperaturkurve ovulatorischen Zyklen zeigen ein Gonadotropinmaximum in der 48-Stunden-Urinportion, welche dem Basaltemperaturanstieg jeweils voranging. Gipfel von durchschnittlich 26,9 HMG-Einheiten und 38,3 immunologischen Einheiten stehen Durchschnittswerten vom Rest des Zyklus in Höhe von 3,5 E HMG 20A/24 Std. und 10,0 IE HCG - Äqu./24 Std. gegenüber (Abb. 12, Tab. 1). Die biologischen und immunologischen Werte lassen im wesentlichen ein gleichsinniges Verhalten erkennen; außerdem besteht in Übereinstimmung mit KAISER, MACKERT und KEYL (66) eine weitgehende zeitliche Korrelation zwischen Gonadotropin- und Östrogenmaxima.

Unter einer kombinierten Östrogen-Gestagenmedikation nach der Zwei-Phasen-Methode wie auch nach Gabe von 0,05 mg ÄÖ und 2,5 mg ANTA/d (Anovlar) vom 5. - 25. Tag sind die Hamgonadotropine mit beiden Methoden stark bis auf oft nicht mehr erfaßbare Mengen herabgesetzt. Die ovulatorischen Gipfel sind als solche nicht mehr erhalten. Es finden sich wohl Gonadotropinausscheidungen, die aus dem Niveau der übrigen Zykluswerte herausragen, sie sind aber weniger als halb so hoch wie im unbehandelten Zyklus und treten zeitlich regellos auf. Abb. 12 zeigt eine Gegenüberstellung der mittleren Gonadotropinausscheidung im Normalzyklus und unter Östrogenen und Progestagenen. Während die Normalzyklen eine durchschnittliche Gonadotropinausscheidung von 6,5 E HMG 20A/24 Std. und 14,6 IE HCG - Äqu./24 Std. zeigen, finden sich unter Behandlung mit Sexualhormonen bei den gleichen Frauen Werte von 3,1 E HMG 20A/24 Std. und 5,0 IE HCG - Äqu./24 Std.

Die Zyklusdauer in Fall 1 und 2a beträgt 35 Tage, im Fall 3a 38 Tage. Der Abstand der folgenden Menstruation vom Gonadotropingipfel beläuft sich bei den genannten Zyklen einmal auf 12 und zweimal auf 15 Tage; in allen 3 Fällen kommt die Zyklenverlängerung somit durch verlängerte Follikelphasen zustande.

2. Die Gonadotropinausscheidung unter Langzeitbehandlung mit reinen Progestagenen nach FERIN

Bei den 4 folgenden Fällen handelt es sich um Patientinnen mit einer Endometriose. Die Therapie besteht entsprechend obigen Ausführungen in monatelangen Progestagengaben mit dem Ziel einer dezidualen Umwandlung und Nekrose der Endometrioseherde (KISTNER, 72, 73).

Fall 4: C.W., 40 Jahre alt. Menarche im 12. Lebensjahr,
Zyklus 28tägig

Im Mai 1963⁺⁾ wurden beiderseits Endometriosecysten der Ovarien entfernt; es bleiben kleine funktionstüchtige Ovarialreste zurück. Die Patientin erhielt seit dem 18.1.1964 täglich 10 mg Äthinylnortestosteronacetat (Primolut Nor).

Am 43. und 165. Behandlungstag wurde eine Strichabrasio durchgeführt, wo-

+) keine eigene Bestimmung

bei das mikroskopische Bild am 43. Behandlungstag regressiv veränderte Dezidualeste und am 165. Behandlungstag eine weitgehend funktionslose Uterusschleimhaut zur Darstellung brachte. Unter der Progestagentherapie klagte die Patientin in den ersten Monaten in 28tägigem Abstand über leichte Schmerzen; zu Blutungen kam es jedoch nur vom 33. - 39., im Anschluß an die Abasio am 166. und vom 275. - 277. Behandlungstag.

Vor Beginn der Therapie wurde die Gonadotropinausscheidung zu 8,2 E HMG 20A/24 Std. und 22,8 IE HCG - Äqu./24 Std. bestimmt. Unter der Therapie wurden die Gonadotropine im Urin bis zum November 1964 achtmal biologisch und elfmal immunologisch kontrolliert. Biologisch fanden sich in keinem Fall nachweisbare Hormonaktivitäten, und auch im Pregnosticontest lagen alle Werte unter 10 IE HCG - Äqu./24 Std. (Abb. 4, Tab. 5). Parallel zu den Gonadotropinen fand sich ein Absinken der Östrogenausscheidung von 30,5 µg vor Beginn der Therapie auf Werte unter 12 µg/24 Std. während der Behandlung.

Fall 5: E.Pe., 41 Jahre alt, Menarche im 16. Lebensjahr,
Zyklus 28tägig.

Im Juni 1963 erfolgte eine supravaginale Uterusamputation mit Exstirpation der rechten Adnexe wegen Uterus myomatosus und Entfernung einer linksseitigen Ovarialcyste wegen eines Endometriose rezidivs hinter der Cervix.

In der Zeit vom 4.12.1963 bis zum 23.12.1963 und vom 14.1.1964 bis zum 2.2.1964 wurden täglich 10 mg, vom 24.12.1963 bis zum 13.1.1964 15 mg Äthinylnortestosteronazetat (Primolut Nor) gegeben. Vom 11.2. bis zum 3.9. erfolgte dann eine Dauertherapie mit täglich 10 mg des gleichen Medikaments, welche nur vom 20. - 26.3. und Ende Mai für 3 Tage unterbrochen wurde. Sobald das Progestagenpräparat abgesetzt wurde, kam es stets zu einer Blutung.

Die Gonadotropine im Harn (Abb. 5, Tab. 6) wurden 7 Tage nach Absetzen der ersten Hormonbehandlung am 8. - 9.2. und 4mal unter der Therapie bestimmt. Am 8. - 9.2., 6 Tage nach der letzten Gabe von Äthinylnortestosteronazetat, betrug die gonadotrope Aktivität 31,0 E HMG 20A/24 Std. und 19,6 IE HCG - Äqu./24 Std. Bei einem Alter von 41 Jahren darf die hohe biologische Aktivität nach VANSELOW (116) als normaler präklinakterischer Wert gelten. Die biologische Aktivität zeigte unter der Behandlung einen Abfall von 12,2 E HMG 20A/24 Std. (65. Tag) auf 3,8 E HMG 20A/24 Std.

(161. Tag), während die immunologisch bestimmten Werte nach einer Aktivität von 19,6 IE HCG - Äqu./24 Std. im behandlungsfreien Intervall sämtlich unter 3,5 IE HCG - Äqu./24 Std. lagen.

Fall 6: T.K., 30 Jahre alt, Menarche im 17. Lebensjahr,
Zyklus 28tägig.

Bei der Patientin wurde 1960 eine Salpingektomie rechts wegen alten Tubaraborts und eine Adnektomie links bei Cystovar und Hydrosalpinx durchgeführt. Die histologische Untersuchung zeigte dann das Bild einer cystischen Endometriose des Ovariums.

Die Patientin erhielt vom 21.1.1963 bis zum 29.1.64 täglich 5 mg Äthinylöstrenol (Orgametril) zyklusgerecht vom 5. - 25. Tag, vom 1.2.1964 ab eine Dauertherapie mit 5 mg Äthinylöstrenol täglich. Wegen rezidivierender Blutungen im Juni und Juli wurde am 29.7. die Therapie auf 5 mg Äthinylöstrenol und 0,15 mg Äthinylöstradiolmethyläther (Lyndiol) täglich umgestellt. Eine Strichabrasio am 156. Tag der Behandlung bietet das histologische Bild einer unregelmäßigen Corpusschleimhaut mit leichter dezidualer Reaktion.

Die Gonadotropine wurden vor Beginn der Dauertherapie am 14.2.1964 zu 9,1 E HMG 20A/24 Std. und 10,4 IE HCG - Äqu./24 Std. bestimmt (Abb. 6, Tab. 6). Dieser Wert darf jedoch nur bedingt als Leerwert gelten, da 13 Tage zuvor eine zyklusgerechte Progestagenbehandlung abgesetzt wurde. 13 und 33 Tage nach Beginn der azyklischen Progestagentherapie am 14.2.1964 finden sich Werte von je 3,8 E HMG 20A/24 Std. und unter 5 IE HCG - Äqu./24 Std. Am 56. Tag der Dauertherapie ist die Aktivität der mit dem Harn ausgeschiedenen Gonadotropine wieder auf 8,7 E HMG 20A/24 Std. und 42,4 IE HCG - Äqu./24 Std. angestiegen, während sich weitere 80 Tage später Werte von unter 10,0 E HMG 20A/24 Std. und 41,0 IE HCG - Äqu./24 Std. finden.

Die Werte für die Östrogenausscheidung liegen bei 42,4 µg in der behandlungsfreien Pause zwischen zyklusgerechter und Dauertherapie; unter der Dauertherapie finden sich am 13. und 56. Behandlungstag erniedrigte Werte von 10,7 und 15,4 µg/24 Std.

Fall 7: M.K., 37 Jahre alt, Menarche im 13. Lebensjahr, Periode 29tägig.
Im Oktober 1963 wurde durch Coeliotomie und Probeexzision eine Endometriose

se histologisch gesichert. Vom 2.10.1963 bis zum 23.5.1964 erfolgte eine Dauertherapie mit 5 mg Äthinylöstrenol (Orgametril) täglich. Unter dieser Therapie kam es am 6. - 20.2.1964 zu Schmierblutungen. Eine Strichabrasio am 20.4.1964 ergab das Bild einer funktionslosen Corpusschleimhaut.

Die am 170. Tag der Hormonbehandlung durchgeführte Gonadotropinbestimmung läßt biologisch und immunologisch keine nachweisbaren Aktivitäten erkennen. Während 12 Tage nach Absetzen der Gestagentherapie immunologisch ein Wert von 12,5 IE HCG - Äqu./24 Std. bestimmt wird, ist ein Anstieg der biologischen Aktivität zu dem Zeitpunkt nicht festzustellen.

Die Werte der Östrogenausscheidung liegen unter der Therapie bei 9,6 µg und 12 Tage nach Beendigung derselben bei 25,9 µg/24 Std. (Tab. 7).

Die Fälle 4 und 5 demonstrieren den zentralen Hemmeffekt einer exogenen Progestagenzufuhr, welcher sich durch eine stark verminderte Gonadotropinausscheidung manifestiert. Sie zeigen darüber hinaus, daß die Gonadotropinausscheidung auch über einen Zeitraum von 27 Wochen unverändert niedrig bleiben kann. Bei Fall 6 kommt es dagegen unter der Therapie zu einem Anstieg der biologischen und immunologischen Aktivitäten, welcher Ausdruck einer Gewöhnung der übergeordneten Zentren an den erhöhten Keimdrüsen-Hormonspiegel sein könnte.

3. Die Gonadotropinausscheidung unter Östrogen-Gestagen-Therapie bei vorher endogen erhöhter Ausscheidung

Bei den drei folgenden Fällen handelt es sich um Patientinnen mit hypergonadotropen Amenorrhöen, welche mit Östrogenen und Progestagenen kombiniert in Form einer Pseudograviditäts- oder Sequential-Therapie behandelt wurden.

Fall 8: M.R., 28 Jahre alt. Menarche im 15. Lebensjahr.

Nach anfänglich normalem Zyklus seit dem 22. Lebensjahr Blutungen nur noch auf Hormongaben. Eine Strichabrasio im April 1962⁺⁾ ergab das Bild eines funktionslosen Endometriums. Im Februar und April 1963 wurde je eine

+) keine eigene Bestimmung

Pseudograviditätskur durchgeführt, seit Mai 1963 wird die Patientin durch eine ständige Sequential-Therapie substituiert.

Die gonadotrope Aktivität im Urin wird im Januar 1963 zu 110,5 E HMG 20A/24 Std. und 80,6 IE HCG - Äqu./24 Std. bestimmt; nach einer fast einjährigen Behandlung mit Ovarialhormonen findet sich ein Rückgang auf 9,2 E HMG 20A/24 Std. und 33,0 IE HCG - Äqu./24 Std. (Tab. 7).

Fall 9: M.A., 23 Jahre alt. Menarche im 13. Lebensjahr,
Zyklus 35 - 42tägig.

Seit dem 21. Lebensjahr besteht eine sekundäre Amenorrhoe, welche seit dem 4. 7. 1963 mit Ovarialhormonen nach der Sequential-Methode behandelt wird.

Die Werte für die Gonadotropinausscheidung betragen vor der Therapie 94,0 E HMG 20A/24 Std. und 104 IE HCG - Äqu./24 Std. Nach einjähriger Substitution sind die Werte auf 27,0 E HMG 20A/24 Std. und 33,0 IE HCG - Äqu./24 Std. abgesunken; weitere 2 Monate später ist unter gleichbleibender Behandlung die immunologische Aktivität kleiner als 9,4 IE HCG - Äqu./24 Std. (Tab. 7, Abb. 7).

Fall 10: E.Pu., 22 Jahre alt. Menarche im 18. Lebensjahr, der Zyklus war stets unregelmäßig.

Vom 14. 6. - 27. 7. 1963 wird eine Pseudogravidität durchgeführt. Nach der Entzugsblutung kommt es zu zwei weiteren Menstruationen vom 12. - 15. 9. und vom 16. - 18. 10. 1963. Danach tritt erneut eine sekundäre Amenorrhoe bei monophasischem Verlauf der Basaltemperaturkurve ein.

Die Gonadotropinausscheidung vor der Scheinschwangerschaft liegt bei 120 E HMG 20A/24 Std., während sie 134 Tage nach der Pseudogravidität zu 8,1 E HMG 20A/24 Std. bestimmt wird (Tab. 8).

Die wenigen Werte zeigen, daß die Zufuhr von Östrogenen und Progestagenen in der verwendeten Menge die Ausscheidung gonadotroper Hormone auch bei hypergonadotropen Zuständen vermindert. Im Fall 10 ist die Gonadotropinausscheidung noch 19 Wochen nach einer Pseudogravidität auf normogonadotrope Werte gesenkt.

4. Die Gonadotropinausscheidung nach Absetzen einer zyklischen Behandlung mit Ovulationshemmern

Bei den folgenden drei Patientinnen wurde wegen Blutungsstörungen eine monatelange Behandlung mit 4 mg Äthinylnortestosteronazetat und 0,05 mg Äthi-
nylöstrodiol (Anovlar) täglich vom 5. - 26. Zyklustag durchgeführt.

Fall 11: E.H., 33 Jahre alt. Menarche im 16. Lebensjahr, Oligomenorrhoe.

Vom März bis August 1963 wurden durch Progestagengaben 5 Blutungen herbeigeführt. Nach 3 spontanen Perioden bei monophasischem Verlauf der Basaltemperaturkurve kamen vom 20. 2. - 10. 7. 1964 eine 5monatige Therapie mit kombinierten Ovarialhormonen nach oben angegebenem Schema zur Anwendung. Die Amenorrhoe blieb nach Absetzen der Behandlung bestehen.

Die Gonadotropinwerte vor Beginn der Therapie liegen bei 7,9 E HMG 20A/24 Std. und unter 4,0 IE HCG - Äqu./24 Std. Im 5. Behandlungszyklus ist die immunologische Aktivität kleiner als 3,0 IE HCG - Äqu./24 Std., 17 Tage nach Absetzen derselben findet sich ein Wert von 38,4 IE HCG - Äqu./24 Std., nach einer weiteren Woche noch 27,2 IE HCG - Äqu./24 Std. Der Tiertest ergibt mit 4,1 mg am 17. behandlungsfreien Tag keine erhöhte Aktivität (Abb. 8, Tab. 8).

Fall 12: R.B., 23 Jahre alt. Menarche im 12. Lebensjahr, Zyklus 28tägig.

Wegen Hypermenorrhoeen wurden vom 18.10.1962 bis zum 10.1.1964 über 15 Zyklen kombinierte Ovarialhormone gegeben.

Die nur auf immunologischem Weg bestimmte Gonadotropinaktivität liegt am letzten Tag der Hormonbehandlung unter 3,5 IE HCG - Äqu./24 Std. Eine Woche nach Absetzen der Therapie findet sich ein Wert von 6,0 IE HCG - Äqu./24 Std., am 14. behandlungsfreien Tag beträgt die Aktivität 35,2 IE HCG - Äqu./24 Std., am 21. Tag 6,4 IE HCG - Äqu./24 Std., und am 28. Tag ist sie kleiner als 4,2 IE HCG - Äqu./24 Std.

Die Östrogenausscheidung wird unter der Therapie zu 3,9 µg/24 Std. bestimmt, während das Maximum nach Absetzen der Hormonzufuhr mit 56,1 µg/24 Std. am 21. Tag, also eine Woche später als der Gonadotropingipfel gefunden wird (Abb. 9, Tab. 8).

Fall 13: E.W., 40 Jahre alt. Zyklus 21 - 24tägig.

Die zyklische Behandlung mit kombinierten Ovarialhormonen wurde vom Oktober 1962 bis zum 18.1.1964 über 15 Zyklen durchgeführt.

Kontrollen der immunologischen Gonadotropinaktivität im Urin wurden einen Tag vor Absetzen der Hormonmedikation sowie 2, 9, 11, 16, 18 und 25 Tage danach durchgeführt. Bis auf den Test am 18. Tag mit einem Wert von 5,5 IE HCG - Äqu./24 Std. fanden sich in keinem Fall immunologisch nachweisbare Gonadotropinmengen und auch biologische Testierungen am 11. und am 17. Tag nach Absetzen ergaben negative Reaktionen.

Die Östrogenausscheidung zeigt gegenüber Werten von $4,3 \mu\text{g}$ unter der Therapie einen Gipfel von 43,8 und $38,3 \mu\text{g}$ am 16. und 18. Behandlungsfreien Tag (Abb. 10, Tab. 9).

In den drei Fällen weisen die immunologischen Gonadotropinwerte wie auch die Östrogenausscheidungswerte Gipfel in der dritten Woche nach dem Absetzen der langfristigen Hormontherapie auf, während die biologische Gonadotropinaktivität unverändert niedrig bleibt. Da der immunologische Gonadotropingipfel im Fall 11 den vor der Therapie bestimmten Wert beträchtlich übersteigt, liegt die Vermutung nahe, daß bei diesem Fall von Amenorrhoe der Anstieg der immunologischen Gonadotropinausscheidung ein Zeichen einer überschießenden Reaktion des Zwischenhirn-Hypophysen-Systems auf den plötzlichen Abfall des Sexualhormonspiegels im Blut im Sinne eines Rebound-Phänomens darstellen könnte. Es ist möglich, daß ein gonadotropinähnliches Protein unter diesen Bedingungen vermehrt gebildet und ausgeschieden wurde, das biologisch keine Aktivität im Maus-Uterus-Test zeigte. Denkbar wäre auch, daß die LH-Produktion isoliert in Gang gekommen ist, was immunologisch, nicht aber biologisch erfaßt wurde, da die biologische Wirkung von reinem LH wie auch von reinem FSH im Maus-Uterus-Test nicht erfaßt wird, weil dieser nur auf einen Synergismus beider Hormone anspricht.

5. Die Gonadotropinausscheidung während und nach einer Pseudograviditätsbehandlung

Bei den folgenden Fällen handelt es sich um 2 Patientinnen mit einer primären und einer sekundären Amenorrhoe. Es wurden Scheinschwangerschaftsbehandlungen durchgeführt, um einen Wachstumsreiz auf das hypoplastische Genitale auszuüben.

Fall 14: I. J., 27 Jahre alt.

Es besteht eine primäre Amenorrhoe bei haselnußgroßem Uterus. Vom 6. 12. 1963 bis zum 26. 1. 1964 fand eine Scheinschwangerschaftsbehandlung statt.

Die Gonadotropinaktivität wurde zwei Tage vor Beginn der Pseudogravidität, einmal unter der Therapie und dreimal nach Absetzen derselben bestimmt. Eine biologische Aktivität ist bei keiner der Testierungen nachweisbar, wohingegen die immunologischen Werte, welche vor und während der Hormonbehandlung unter 10 IE HCG - Äqu./24 Std. liegen, 4 Tage nach Absetzen der Scheinschwangerschaft auf 52,0 IE HCG - Äqu./24 Std. und weitere 5 Tage später auf 96,8 IE HCG - Äqu./24 Std. ansteigen. 36 Tage nach Beendigung der Pseudogravidität ist die immunologische Aktivität wieder kleiner als 7,1 IE HCG - Äqu./24 Std.

Vor Beginn der Hormonbehandlung am 6. 12. 1963 liegt die Gesamtöstrogenausscheidung bei 10,6 $\mu\text{g}/24$ Std. Vier Tage nach Beendigung derselben findet sich ein Wert von 61,5 μg , weitere 5 Wochen später, am 4. 3. 1964, ist die Östrogenausscheidung auf 6,0 $\mu\text{g}/24$ Std. abgesunken. (Abb. 11, Tab. 9).

Fall 15: I. S., 26 Jahre alt. Menarche im 11. Lebensjahr, Zyklus bis zum Oktober 1962 28tägig, dann sekundäre Amenorrhoe.

Vom 15. 5. bis zum 24. 6. 1963 wurde eine Pseudogravidität durchgeführt, welcher 3 Spontanperioden (im Juli, August und Oktober) folgten. Auch eine erneute Scheinschwangerschaft im Februar und März 1964 hatte nur den Erfolg zweier spontaner Regelblutungen im April und im Mai.

Die Gonadotropinausscheidung wurde jeweils vor den Hormonbehandlungen (am 13. 5. 1963 und am 18. 2. 1964) bestimmt; eine Kontrolle erfolgte am 25. 6. 1964, 11 Wochen nach Beendigung der zweiten Pseudogravidität. Vor der ersten Scheinschwangerschaft finden sich Werte von 6,0 E HMG 20A/24 Std. und 13,6 IE HCG - Äqu./24 Std., vor der zweiten ist der immunologische Wert bei etwa gleichbleibender biologischer Aktivität vermindert (5,4 E HMG 20A/24 Std. und unter 4,3 IE HCG - Äqu./24 Std.). Eine erhöhte Gonadotropinausscheidung läßt sich nach 11 Wochen nach Absetzen der Pseudogravidität nicht nachweisen (2,8 E HMG 20A/24 Std. und unter 3,6 IE HCG - Äqu./24 Std.) (Tab. 9).

Fall 14 demonstriert den starken Anstieg der auf immunologischem Weg be-

stimmten Gonadotropinwerte nach dem Absetzen einer Scheinschwangerschaftsbehandlung. Ein Aktivitätsmaximum ist 9 Tage nach Beendigung der Hormontherapie nachweisbar. Am gleichen Tag ist auch die Östrogenausscheidung maximal erhöht. Fünf Wochen (Fall 14) und 3 Monate (Fall 15) nach Absetzen der Scheinschwangerschaft findet sich keine vermehrte Gonadotropinausscheidung mehr. Merkwürdigerweise steigt die biologische Aktivität nach Beendigung der Pseudogravidität nicht an.

IV. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

1. Die Ausscheidung der hypophysären Gonadotropine wurde als "Gesamtgonadotropinkomplex" im Mäuse-Uterus-Test bestimmt. Eine isolierte Bestimmung der LH- bzw. FSH-Aktivität erfolgte nicht. Der sekundäre Effekt der Gewichtszunahme des Maus-Uterus als Maß für eine Gonadotropinwirkung ist unspezifisch, aber recht empfindlich.

Die gonadotropen Hormone regen das Uteruswachstum über eine Östrogenproduktion der Ovarien an. Daher ist die Feststellung von Wichtigkeit, daß durch die angewandte Kaolin-Azeton-Methode zur Gewinnung der Gonadotropine aus dem Harn die im Urin enthaltenen Östrogene völlig eliminiert werden (BOUTE u. a., 17).

Ein unter Verwendung von HCG-Hausstandard durchgeführter Recovery-Versuch mit der verwendeten Kaolin-Azeton-Methode nach LORAINE und BROWN (88) ergab einen Wert von 80%. KELLER (70) wies nach Extraktion durch das Verfahren der Alkoholfällung mit Dialyse 61,9%, nach Aufarbeitung mit der Kaolin-Azeton-Methode nach ALBERT (1) 93,7% des wahren Wertes nach, so daß der bei der verwendeten Methode ermittelte Wiederfindungsquotient von 80% als befriedigend gelten darf.

Da die gonadotrope Wirksamkeit der Extrakte durch unspezifische Substanzen wie biologisch inaktives Kaolin beeinflußt wird (WALTER und WYSOCKI, 119), ist eine weitgehende und gleichmäßige Reinigung der Testsubstanzen von Begleitstoffen erforderlich, welche durch das hier angewandte Tricalciumphosphat-Verfahren (88, 27) in befriedigendem Maße gewährleistet wird.

Die durchschnittliche Menge des Trockenextraktes entsprach mit 156,7 mg/l Urin der von GEIGER (42) bei Postmenopausenharn und bei den Harnen amenorrhöischer Frauen gefundenen. Sie lagen damit unter der von LORAINE und BROWN (87), VANSELOW (116), GÖRDES (43) und MACKERT (93) angegebenen Extraktgewichten.

Die Tiersterblichkeit lag mit 7,9% relativ hoch. Während LORAINE und BROWN (88) bei Dosen über 2 mg mit einer Tiersterblichkeit von 5,2% rechneten, fand sich bei GEIGER (42) eine Mortalität von 2 - 5% und bei WENIG (121) eine solche von 12,4% bei Dosen über 4 mg Dosis.

2. Während die bisher für Routine-Bestimmungen gonadotroper Hormone ausschließlich benutzten biologischen Nachweisverfahren zeitraubend und durch den Verbrauch von zahlreichen Tieren belastet sind, zeichnen sich die vor kurzem entwickelten immunologischen Bestimmungsmethoden durch ihre einfache Ausführung, durch ihren geringeren Zeitaufwand aus.

Auf Grund der beschriebenen Kreuzreaktion lassen sich auch hypophysäre Gonadotropine mit dem Pregnosticon-Test nachweisen. Nach WIDE und GEMZELL (127) soll die immunologische Reaktion spezifisch für LH sein und FSH nicht interferieren; die Beobachtung konnte bisher jedoch nicht bestätigt werden. Folglich werden die Ergebnisse immunologischer Bestimmungen als HCG-Äquivalente (IE HCG - Äqu.) angegeben.

Der immunologische Nachweis bestimmt das Gonadotropin-Protein auf Grund seiner antigenen Eigenschaft, unabhängig von seiner biologischen Wirkung. So kann bei durch Hitze inaktiviertem und somit biologisch inaktivem Gonadotropin die volle immunologische Aktivität erhalten sein. Die vorliegenden Doppelbestimmungen bieten einen Vergleich, in welchem Verhältnis biologische und immunologische Werte, die Verschiedenes messen, unter gleichen Bedingungen vorliegen.

Immunologisch gleich aktive Mengen von LH und HCG reagieren biologisch im Verhältnis 1 : 3 (WIDE, 125), und die auf biologischem und immunologischem Weg gefundenen Aktivitätswerte desselben HCG- oder LH-Präparats verlaufen nach WIDE (125) stets parallel.

Ein konstantes Verhältnis der biologischen und immunologischen Aktivität konnte bei von geschlechtsreifen Frauen mit dem Harn ausgeschiedenen Gonadotropinen in der vorliegenden Arbeit nicht festgestellt werden. Bei einem durchschnittlichen Verhältnis von biologischen zu immunologischen Werten wie 2,22 IE HCG - Äqu./24 Std. zu 1 E HMG 20A/24 Std. fanden sich Schwankungen des Diskriminierungsindex von 0,19 bis 9,36.

Die auf biologischem und immunologischem Weg bestimmten Gipfel der Gonadotropinausscheidung wurden zeitlich wohl parallel gefunden, jedoch wiesen die Werte kein konstantes Verhältnis auf. Im Zyklus unter kombinierter Gabe von Östrogenen und Progestagenen war sowohl die biologische wie auch die immunologische Gonadotropinaktivität im Harn bis auf überwiegend nicht meßbare Werte gesenkt; einzelne biologische wie auch immunologische Werte überragten das niedrige Niveau ohne zeitliche Übereinstimmung. Bei

den Fällen mit hypergonadotropen Amenorrhöen korrespondieren biologische und immunologische Werte sowohl unbehandelt wie auch unter Hormontherapie gut miteinander. Weniger gut ist die Korrelation der auf biologischem und immunologischem Weg gefundenen Werte unter Behandlung mit reinen Progestagenen, eine Gesetzmäßigkeit der Abweichungen läßt sich jedoch nicht feststellen. Nach Beendigung einer Scheinschwangerschaftsbehandlung zeigte sich ein starkes Ansteigen der immunologischen Aktivität bei unverändert niedrigen biologischen Werten. Eine ähnliche Diskrepanz fand sich bei drei Patientinnen nach Absetzen einer monatelangen kombinierten Behandlung mit Östrogenen und Progestagenen. Erklärungsmöglichkeiten für dieses Verhalten sind, daß die Hypophyse auf den Reiz einer exogenen Hormonzufuhr mit der Produktion qualitativ veränderter Proteine antwortet oder daß nur die LH-Aktivität ansteigt, was im Maus-Uterus-Test nicht erfaßt wird, da dieser auf einen Synergismus von FSH und LH anspricht.

3. Die wenigen Normalzyklen ergaben einen Zyklusdurchschnitt von 6,5 HMG-Einheiten bei einem mittleren Gipfel von 26,9 E HMG 20A/24 Std. zur Zeit der Ovulation (Abb. 12, Tab. 1). Die Werte sind damit von derselben Größenordnung wie die Ergebnisse anderer Autoren (LAURITZEN, 76, WEISER, 120). Obwohl zwischen der immunologisch bestimmten Ausscheidung und dem biologisch getesteten Gesamtgonadotropin keine feste quantitative Korrelation bestand, weisen auch die immunologischen Werte zur Zeit der Ovulation ein deutliches Maximum von durchschnittlich 38,8 IE HCG-Äqu./24 Std. auf gegenüber einem Mittel des gesamten Zyklus von 14,6 IE HCG-Äqu./24 Std.

Das bereits in einer Reihe von älteren Arbeiten beobachtete und besonders von FARRIS (35) als Ovulationszeichen bewertete Maximum der Gonadotropinausscheidung in der Zyklusmitte wird als regelmäßiges Ereignis neuerdings von LORAINE (82) angezweifelt; die von ihm untersuchten Zyklen weisen einen solchen in weniger als 30% auf, während ihn andere Autoren (JOHNSEN, 51, BUCHHOLZ, 23, 25) als konstantes Phänomen beobachten. Es ist denkbar, daß der Nachweis eines Gipfels, welcher ein kurzdauerndes Ereignis darstellt, bei der Versuchsanordnung von LORAINE aus dem Grund nicht gelang, weil bei ihm 72-Stunden-Sammelharne zur Bestimmung kamen.

In Übereinstimmung mit Ergebnissen von KAISER und DAUME (64) lassen die beiden Hemmzyklen ein deutliches Absinken der Gonadotropinausscheidung erkennen. Die Medikation kombinierter Ovarialhormone bewirkte eine Depression auf 46,8% des biologischen und 34,0% des immunologischen Ausgangs-

wertes. Der Mechanismus der auch zur Ovulationshemmung verwendeten Kombinationspräparate von Östrogenen und Progestagenen ist in neuerer Zeit viel diskutiert, obwohl die Theorie einer zentralen Hemmung von der Mehrzahl der Forscher allgemein anerkannt wird. LUNENFELD (91, 92) beobachtete nämlich, daß die Verabreichung von Östrogen-Progestagen-Präparaten die Reaktionsfähigkeit der Ovarien auf exogene Gonadotropinzufuhr inhibierte, auch wenn diese in exzessiven Dosen zugeführt wurden. LORAINÉ findet sogar eine vermehrte Gonadotropinausscheidung bei gewissen Patienten, so daß von diesen Autoren die Ovulationshemmung einer Wirkung unmittelbar auf die Ovarien zugeschrieben wird.

Obwohl die vorliegenden Ergebnisse eine zusätzliche Wirkung exogener Sexualhormone unmittelbar am Ovar nicht ausschließen, weist die verminderte Gonadotropinausscheidung auf eine zentrale Hemmung hin. Auch bei Patientinnen mit einer endogen erhöhten Gonadotropinproduktion bewirkte die Zufuhr kombinierter Ovarialhormone ein Absinken der biologisch und immunologisch bestimmten Gonadotropinwerte.

4. Der Effekt einer reinen Progestagenzufuhr auf die Gonadotropinausscheidung besteht in Übereinstimmung mit Angaben von BUCHHOLZ (21, 24) ebenfalls in einer Verminderung der Harngonadotropine. Fall 4 zeigt ein Absinken der Ausscheidung auf nicht meßbare Werte, während die Gonadotropine in Fall 5 auf 1/3 des Ausgangswertes erniedrigt sind. Fall 6 zeigt unter der Behandlung nach anfänglich niedrigen Werten wieder eine Zunahme der gonadotropen Aktivitäten, die biologisch den Ausgangswert nicht erreichen, ihn immunologisch aber sogar übersteigen. Aus diesem Einzelbefund können jedoch keine Schlüsse gezogen werden, da der Ausgangswert 15 Tage nach der letzten Gabe von 5 mg Äthinyloestrenol bestimmt wurde.

Von der Mehrzahl der Autoren (BUCHHOLZ, 21, 24, APOSTOLAKIS, 4, DOUGLAS u. a., 31, MARTIN und CUNNINGHAM, 94) wurde ein definitiver Abfall der Gesamtgonadotropinaktivität im Serum und im Urin nachgewiesen. Progestagene wie Äthinyl-nortestosteronazetat gelten als Hemmer der Hypophysenfunktion. Ihre inhibitorische Wirkung ist allerdings geringer als die von Östrogenen (LORAINÉ und BELL, 85) und möglicherweise auf eine Umwandlung in Östrogene im Körper zurückzuführen (BROWN und BLAIR, 20). Nach LORAINÉ, BROWN und FOTHERBY (90) soll die zyklische Gabe von Äthinyl-nortestosteron vom 5. - 25. Zyklustag die Ovulation unterdrücken, ohne die Gesamtgonadotropinexkretion zu beeinflussen. LORAINÉ zieht daraus die Folgerung, daß Progestagene ihre Wirkung durch unmittelbares Angreifen am

Ovarium ausüben. Da das angewandte biologische Nachweisverfahren auf ein FSH-LH-Gemisch anspricht, kann die Depression des einen oder anderen Anteils nicht ausgeschlossen werden (LORAINE, 80). So fand van REES (100) bei einer Dosierung von 1 mg Progesteron täglich bei Ratten verminderte ICSH-Spiegel bei unveränderten FSH-Werten im Plasma. SAUNDERS (104), ECKSTEIN und MANDL (32) nehmen auf Grund biologischer Versuche an Ratten eine Hemmwirkung von Progestagenen auf die Hypophyse und nicht einen unmittelbaren Effekt auf die Ovarien als Ursache für die Unfruchtbarkeit an.

Im Bericht über die Tagung der International Fertility Association in Brüssel von RICHTER (101) wird diskutiert, daß einige der Präparate direkt auf das Ovar, andere auf die Hypophyse und eine weitere Gruppe auf beide Organe zugleich wirken können; zudem sollen verschiedene Dosierungen verschiedene Wirkungen haben können. Es besteht somit die Möglichkeit, daß die Progestine auf zwei Wegen am Ovarium wirksam werden können, nämlich

1. durch Hemmung der Ovulation mittels direkter Wirkung auf das Ovar,
2. indirekt durch Blockierung der Hypophyse (RICHTER, 102).

Der zentral-depressorische Effekt wird bei den vorliegenden Fällen wahrscheinlich gemacht. Einem durchschnittlichen Wert vor der Hormongabe von 16,1 E HMG 20A/24 Std. vor Beginn der Therapie steht ein Mittelwert von 5,3 E HMG 20A/24 Std. unter Progestagenmedikation gegenüber. Während die biologische Aktivität somit auf 33% des Ausgangswertes abfiel, zeigten die immunologisch bestimmten Werte von 10,1 IE HCG-Äqu./24 Std. gegenüber 12,4 IE HCG-Äqu./24 Std. bei den Ausgangszyklen nur eine Verminderung um 19%.

5. Nach Absetzen einer 5 - 15monatigen zyklusgerechten Medikation von täglich 4 mg Äthinyltestosteronazetat und 0,05 mg Äthinylöstradiol (Anovlar) zeigten die immunologischen Gonadotropinaktivitäten in zwei von drei Fällen einen Anstieg, während eine Zunahme bei der dritten Patientin nur angedeutet war. Die Gonadotropinmaxima traten zwei bis drei Wochen nach Absetzen der Hormonbehandlung auf. Die Ausscheidung der Östrogene, die aus den gleichen Urinen bestimmt wurden, zeigten ein gleichsinniges Verhalten. Fall 11 einer normogonadotropen Amenorrhoe zeigt, daß die nach Beendigung der Hormonzufuhr nachgewiesenen immunologischen Hormonaktivitäten jene vor und während der Therapie weit übersteigen. Ein analoger Anstieg der biologischen Aktivität war nicht nachweisbar. Dem entspricht auch, daß nach Absetzen der Hormontherapie klinisch die Amenorrhoe weiterbestand und die Basaltemperaturkurve dabei einen konstant monophasischen Verlauf zeigte.

Eine ähnliche Dissoziation der biologischen und immunologischen Aktivitäten findet sich bei Fall 14 nach einer Scheinschwangerschaft. Die immunologisch bestimmten Gonadotropinwerte sind 9 Tage nach Beendigung der Pseudogravidität stark erhöht, zu gleicher Zeit ist die Östrogenausscheidung erhöht. Eine biologische Gonadotropinaktivität ist auch hier nicht zu beobachten, was zum klinischen Verlauf paßt, und nach der Abbruchblutung besteht die Amenorrhoe weiter fort.

Eine vermehrte Gonadotropinausscheidung nach Absetzen einer Hormonzufuhr, welche die Werte vor der Behandlung übersteigt, wäre eine Bestätigung des Rebound-Effektes bei der Frau. Dieser konnte mit der biologischen Bestimmung nicht nachgewiesen werden, jedoch wiesen die immunologisch-semiquantitativ ermittelten Werte ein solches Verhalten auf. Bei zwei Fällen (Fall 11 und Fall 14), die vor Beginn der Behandlung eine auf immunologischem Weg bestimmte Gonadotropinaktivität im Harn unter 7 IE HCG-Äqu./24 Std. aufwiesen, wurde nach Absetzen der Therapie eine überschießende Ausscheidung des "Gonadotropin-Proteins" ohne biologische Aktivität im Maus-Uterus-Test gefunden.

Bei der Ratte konnte HOHLWEG (53) den Rebound-Effekt experimentell nachweisen, indem er über längere Zeit Sexualhormone zuführte, wodurch das Sexualzentrum der Ratte an den hohen Bluthormonspiegel gewöhnt und desensibilisiert wurde. Auf das Absetzen der Hormonzufuhr reagierte die Hypophyse mit einer überschießenden Reaktion im Sinn einer gesteigerten Gonadotropinproduktion. Der Rebound-Effekt wurde weiterhin von LASCHET, HOHLWEG und BILZ (75) im Hypophysen-Nebennierenrindensystem nach Gabe von ACTH und CORTISON nachgewiesen. In der Klinik stellten zahlreiche Untersucher nach Absetzen von Sexualhormonen eine erhöhte Fertilität fest und benutzten deren Anwendung bei der funktionellen Sterilität zur Erzielung des genannten Phänomens (45, 102),

Ob die Dissoziation biologischer und immunologischer Werte nach Absetzen einer Medikation kombinierter Sexualhormone bei normogonadotropen amenorrhoeischen Patientinnen ein bloßer Zufall ist oder ob sich hinter der Diskrepanz eine Gesetzmäßigkeit verbirgt, läßt sich auf Grund der wenigen Untersuchungen nicht mit Sicherheit sagen. Als Erklärungsmöglichkeit für dieses Phänomen ist denkbar, daß die Hypophyse nach Absetzen der Hormonzufuhr aus einem frustrierten Produktionsbestreben vermehrt Proteine bildet, die zwar immunologisch als Gonadotropine charakterisiert sind, denen es je-

doch an der Aufwertung zum biologisch aktiven Hormon mangelt, bzw. daß es sich nur um eine isolierte - wahrscheinlich LH - Aktivität handelt, die bei gleichzeitigem Fehlen der FSH-Komponente biologisch unwirksam bleibt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die gegenwärtigen Vorstellungen über die Natur der Gonadotropine, ihre biologischen Wirkungen und die Regulation ihrer Ausscheidung werden kurz dargelegt.

Es folgt eine Beschreibung des verwendeten Anreicherungs- und Reinigungsverfahrens sowie der biologischen Testierung der Extrakte mit dem Maus-Uterus-Test. Berechnung und statistische Auswertung der Testergebnisse werden anhand eines Rechenbeispiels demonstriert. Ein Recovery-Versuch weist mit 80% eine zufriedenstellende Wiederfindungsrate der Methode nach.

Im methodischen Teil wird das von WIDE und GEMZELL entwickelte immunologische HCG- und LH-Nachweisverfahren (Pregnoticon-Test-Organon) sowie die Alkoholfällung mit Reinigungsschritt als Extraktionsmethode für den immunologischen Nachweis hypophysärer Gonadotropine aus dem Urin dargestellt.

Während drei Normalzyklen und zwei Zyklen unter Medikation kombinierter Sexualhormone wurde die Gonadotropinausscheidung bestimmt. Die Normalzyklen wiesen einen deutlichen Gipfel der Gonadotropinaktivitäten zur Zeit der Ovulation auf. In den Behandlungszyklen ließ sich ein Gonadotropinmaximum zur Zyklusmitte nicht nachweisen, und die mittlere Aktivität war um mehr als 50% gesenkt.

Die Auswirkung einer Progestagen-Langzeittherapie auf die Exkretion gonadotroper Hormone wurde anhand von vier Fällen untersucht. Im Durchschnitt zeigte die biologische Aktivität unter der Therapie ein Absinken auf 33% des Ausgangswertes, während die immunologisch bestimmten Werte nur um 19% abfielen. Bei einer Patientin zeigte sich während der Behandlung ein Ansteigen der gonadotropen Aktivitäten.

Die Zufuhr kombinierter Ovarialhormone in zwei Fällen von hypergonadotroper Amenorrhoe bewirkten eine Normalisierung der Gonadotropinausscheidung.

Besonders diskutiert wurde die Gonadotropinausscheidung nach Absetzen einer monatelangen zyklusgerechten Behandlung mit Ovulationshemmern sowie einer Pseudogravidität bei normogonadotropen amenorrhoeischen Frauen, die in der Zeit vom 4. - 27. Tag nach Absetzen biologisch unverändert, immunologisch aber eindeutig erhöht meßbar war.

	BIOL. (E HMG 20A/24 Std.)			IMM. (IE HCG-Äqu./24 Std.)			Zyklus- dauer (Tage)	Anzahl der untersuchten Tage
	Zyklus- durchschnitt	Gipfel	Durchschnitt ohne Gipfel	Zyklus- durchschnitt	Gipfel	Durchschnitt ohne Gipfel		
1. M.D. Norm.	7,1	38,4	3,2	14,4	46,4	10,4	35	18 (18.-35.)
2a. M.S. Norm.	4,3	10,1	3,2	19,2	58,0	12,8	35	14 (10.-23.)
2b. Hemm.	3,0	-	-	6,2	-	-	28	15 (6.-20.)
3a. K.N. Norm.	7,5	32,2	4,0	10,3	12,1	10,0	38	20 (5.-24.)
3b. Hemm.	3,1	-	-	3,6	-	-	28	21 (5.-25.)
Gesamt Norm.	6,5	26,9	3,5	14,6	38,8	11,0		
Hemm.	3,1	-	-	5,0	-	-		

Tab. 1: Die mittleren Gonadotropinaktivitäten im Harn während der Normal- ("Norm") und Behandlungs- ("Hemm") Zyklen; die Gipfel der Normalzyklen; die mittleren Aktivitäten der ohne Gipfel verbliebenen Normalzyklen ("Durchschnitt ohne Gipfel") sowie die Mittelwerte der drei Normalzyklen und die der drei Behandlungszyklen ("Gesamt").

	BIOL. (E HMG 20A/24 Std.)	IMM. (IE HCG-Äqu./24 Std.)
ohne Medikamente	16,1 (3)	12,4 (3)
unter Progestagenmedikation	5,3 (3)	10,1 (5)

Tab. 2: Die mittlere Gonadotropinausscheidung vor und während einer Behandlung mit reinen Progestagenen. In Klammern die Anzahl der Fälle.

Nr.	Name	Alter	Zyklus- dauer	Therapie	Zyklustag	Datum	BIOL. Wert	g	t ₁	t ₂	λ	L	Vertr. Gr.	IMM. Wert
1.	M.D.	34 J.	35 Tage	-	18.-19. 20.-21. 22.-23. 24.-25. 26.-27. 28.-29. 30.-31. 32.-33. 34.-35.	6.- 7.4. 8.- 9.4. 10.-11.4. 12.-13.4. 14.-15.4. 16.-17.4. 18.-19.4. 20.-21.4. 22.-23.4.	2,5 5,3 38,4 5,0 2,5 2,5 2,5 2,8 2,5	0,46 0,39 0,22	2,05 2,79 2,02	3,51 3,36 2,62	0,155 0,139 0,13	6,45 7,2 7,7	0,5- 5,6 1,8-10,9 19,9-104,4	4,8 4,85 46,4 12,1 8,8 8,8 4,3 4,4 3,5
2a.	M.S.	23 J.	35 Tage	-	10.-12. 13.-14. 15.-16. 17.-18. 19.-20. 21.-22. 23.	5.- 7.3. 8.- 9.3. 10.-11.3. 12.-13.3. 14.-15.3. 16.-17.3. 18.3.	5,8 2,5 2,5 2,5 10,1 2,5 -	0,12	2,12	1,59	0,095	10,5	4,3- 7,4	10,0 4,8 17,1 16,1, 58,0 24,3 14,5

Tab. 3: Die biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinausscheidung unter Angabe der Vertrauensgrenzen.

g = Regression, t₁ = Parallelität, t₂ = gleiche Wirkung, λ = Präzisionsmaß, L = 1/ λ

Nr.	Name	Alter	Zyklus- dauer	Therapie	Zyklustag	Datum	BIOL. Wert	g	t ₁	t ₂	λ	L	Vertr. Gr.	IMM. Wert
2b.	M.S.	23 J.	28 Tage	5.-19.4.: tägl. 75 mg Athinyl- östradiol 20.-25.4.: tägl. 1 Anovlar	4.-6. 7.-9. 10.-11. 12.-13. 14.-15. 16.-17. 18.-19. 20.-21. 22.-23. 24.-25. 26.	3.-5.4. 6.-8.4. 9.-10.4. 11.-12.4. 13.-14.4. 15.-16.4. 17.-18.4. 19.-20.4. 21.-22.4. 23.-24.4. 25.4.	3,8 2,5 3,5 4,8 2,5 2,5 2,5 2,5 2,5 2,5 -	0,47 0,08	1,89 0,014	1,9 0,083	0,156 0,067	6,4 14,9	- 5,1 2,9 2,7 6,4 3,5 2,5 5,3 22,5 6,3 4,7	
3a.	K.N.	23 J.	38 Tage	-	5.-6. 9.-10. 11.-12. 12.-13. 14.-15. 16.-17. 18.-19. 20.-21. 22.-24.	9.-10.1. 13.-14.1. 15.-16.1. 16.-17.1. 18.-19.1. 20.-21.1. 22.-23.1. 24.-25.1. 26.-28.1.	2,8 - 2,5 2,5 2,5 5,6 9,5 2,5 32,2	0,17 0,13 0,14	2,21 0,35 1,9	4,6 0,79 1,5	0,095 0,083 0,102	10,5 12,0 9,7	- 14,0 9,0 7,2 - 20,4 2,8 6,6 12,1	

Nr.	Name	Alter	Zyklus- dauer	Therapie	Zyklustag	Datum	BIOL. Wert	g	t ₁	t ₂	λ	L	Vertr. Gr.	IMM. Wert
3b.	K.N.	23 J.	28 Tage	5.-24.Tag: tägl. 2,5 mg Äthinyl- nortesto- steron- azetat +0,015 mg Äthinyl- östradiol (Etalontin)	9.-11. 11.-13. 13.-15. 15.-17. 17.-19. 19.-21. 21.-23. 23.-25. 25.-27.	21.-23.2. 23.-25.2. 25.-27.2. 27.-29.2. 29.- 2.3. 2.- 4.3. 4.- 6.3. 6.- 8.3. 8.-10.3.	5,2 3,5 3,5 2,5 3,6 2,5 2,5 2,5 2,5	0,205 0,1814 0,240	0,019 0,023 0,030	3,9 2,92 2,58	0,104 0,097 0,112	9,6 10,3 8,9	2,6- 7,4 2,1- 4,7 1,9-10,1	2,6 1,9 1,6 1,8 4,0 15,2 1,6 1,7 1,8
			Diag- nose		Behand- lungstag									
4.	C.W.	40 J.	Endome- triose	Ab 18.1.64: tägl. 10 mg Äthinyl- nortesto- steron- azetat	22. 23. 58.-59. 86.-87. 102.-103. 162.-163. 192.-193.	16.-17.1. 9.2. 10.2. 17.-18.3. 14.-15.4. 30.4.-1.5. 29.-30.6. 29.-30.7.	8,2 - - 2,5 2,5 2,5 2,5 2,5	0,059	2,06	0,231	0,067	14,9	6,8-10,8	21,8 5,0 7,1 6,5 5,7 4,5 8,6 5,4

Tab. 5: Erklärung s. Abb. 3

Nr.	Name	Alter	Diag- nose	Therapie	Behand- lungstag	Datum	BIOL. Wert	g	t ₁	t ₂	λ	L	Vertr. Gr.	IMM. Wert
5.	E. Pe.	41 J.	Endo- metri- ose	Äthinylnor- testosteron- azetat 4.-23.12.63 tägl. 10 mg 24.12.63 - 13.1.1964 tägl. 15 mg 14.1. - 2.2.1964 tägl. 10 mg 11. 2. - 3. 9. 1964 tägl. 10 mg	24.-25. 65.-66. 118.-119. 161.-162.	8.-9.2. 6.-7.3. 16.-17.4. 8.- 9.6. 21.-22.7.	31,0 10,9 12,2 3,4 3,8	0,154 0,142 0,093 0,375 0,267	1,83 2,01 0,38 1,18 1,00	2,13 0,55 1,68 2,26 1,93	0,108 0,067 0,07 0,14 0,118	9,3 14,9 14,3 7,14 8,5	19,0-43,0 8,8-13,7 9,9-15,5 2,5- 9,5 2,1- 5,6	19,6 3,0 3,1 3,0 3,5
6.	T. K.	30 J.	Endo- metri- ose	Vom 26. 1. 1963 bis 29.1.1964 5 mg Äthinylnor- östrenol zyklusge- recht, ab 14.2.64 Dauerther.	13.-14. 33.-34. 56.-57. 137.-138.	12.-13.2. 27.-28.2. 18.-19.3. 10.-11.4. 28.-29.7.	9,1 3,8 3,8 8,7 10,0	0,018 0,275 0,278 0,119	0,82 2,10 1,82 0,144	1,59 2,05 1,90 1,66	0,075 0,115 0,121 0,079	13,3 8,7 8,3 12,8	7,4-11,0 2,1- 5,7 2,1- 5,5 5,5- 9,3	10,4 5,0 5,0 42,4 41,0

Tab. 6: Erklärung s. Abb. 3

Nr.	Name	Alter	Diag- nose	Therapie	Behand- lungstag	Datum	BIOL. Wert	g	t ₁	t ₂	λ	L	Vertr. Gr.	IMM. Wert
7.	M.X.	37 J.	Endo- metri- ose	2.10.1963 bis 23.5.1964 tägl. 5 mg Athinyl- östrenol	170.-171.	20.-21.4. 1964 4.-5.6. 1964	2,5 2,5							4,3 12,5
8.	M.R.	28 J.	Hyper- gonado- trophe Ame- norrhoe	Schein- schwan- gerschaf- ten im Febr. u. April 63. Ab 19.5.63 Sequen- tial-Ther.	11.Subst. Zyklus	Jan. 1963 27.-28.4. 1964	110,5 9,6	0,28 0,12	2,15 1,52	1,68 0,76	0,15 0,079	6,8 12,7	76-208 7,3-12,2	80,6 33,0
9.	M.A.	23 J.	Hyper- gonado- trophe Ame- norrhoe	Seit 4.7.63 Sequen- tial- Ther.	11.Subst. Zyklus 13.Subst. Zyklus	25.4.63 5.-6.7.64 8.-9.9.64	94,0 27,0	0,12 0,206	0,66 0,283	2,16 1,93	0,10 0,0103	10,0 9,7	83-145 19,9-42,3	104,0 33,0 9,4

Tab. 7: Erklärung s. Abb. 3

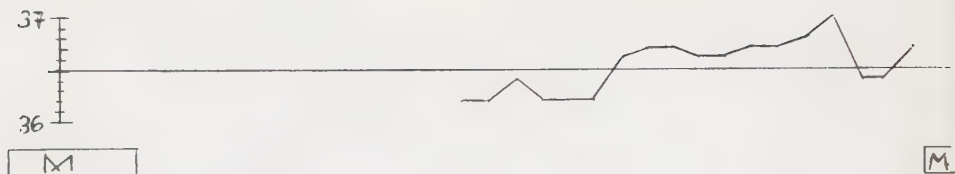
Nr.	Name	Alter	Diagnose	Therapie	Tag nach Absetzen	Datum	BIOL. Wert	g	t ₁	t ₂	λ	L	Vertr. Gr.	IMM. Wert
10.	E. Pu.	22 J.	Hypergonadotrope Amenorrhoe	14.6. - 27.7.63 Schein- schwangerschaft		9.1.63 8.-9.12.64	120,0 8,1	0,29 0,275	2,64 1,58	2,09 1,57	0,15 0,12	6,6 8,3	82,5-242,0 3,6- 9,4	- 4,6
11.	E. H.	33 J.	Oligomenorrhoe	20.2. - 10.7.64 tägl. 4 mg Äthinyl- nortestosteron- zetat und 0,05 mg Äthinyl- östradiol 5.-25.Tag	17.-18. 24.	2.9.63 7.7.64 27.-28.7.64 3.8.64	7,9 4,1							4,0 3,0 38,4 27,4
12.	R. B.	23 J.	juvenile Hypertrophie Amenorrhoe	18.10.62 - 10.1.64 Ther. zyklus- gerecht Anovlar	7. 14. 21. 28.	10.1.64 17. 1. 24. 1. 31. 1. 7. 2.								3,5 6,0 35,2 6,4 4,2

Tab. 8: Erklärung s. Abb. 3

Nr.	Name	Alter	Diag-nose	Therapie	Tag nach Absetzen	Datum	BIOL. Wert	g	t ₁	t ₂	λ	L	Vertr. Gr.	IMM. Wert
13.	E.W.	40 J.		Okt. 1962 bis 18.1.64 zyklus- gerecht Anovlar	2.-3. 9. 11.-12. 16. 18.-19. 26.	17.1.64 20.-21.1. 27. 1. 29.-30.1. 3. 2. 5.- 6.2. 13. 2.								3,5 2,5 3,3 5,0 3,6 5,5 2,6
14.	I.J.	27 J.	Prim. Ame- norrhoe	Ther. Pseudo- grav. vom 6.12.63 bis 26.1.64	4. 9. 36.-38.	2.-3.12.63 11.-12.1.64 30. 1. 64 4. 2. 64 2.-4.3.64	2,5 2,5 2,5 2,5 2,5							6,4 9,7 52,0 96,8 7,1
15.	I.S.	26 J.	Sek. Ame- norhoe	15.5. - 24.6.63 1. Pseudo- grav. 28.2. - 9.4.1964 2. Pseudo- grav.	77.	13.5.63 18.-19.2.64 25.-26.6.64	6,0 5,4 2,8	0,23 0,104 0,185	1,90 1,93 2,20	0,85 0,43 3,12	0,13 0,074 0,095	7,5 13,5 10,5	4,2-9,3 4,3-7,1 1,5-3,8	13,6 4,3 3,6

Tab. 9: Erklärung s. Abb. 3

M.D. 34 J.
BASALTEMPERATUR



GONADOTROPINE
BIOLOGISCH
E HMG 20A/24STD



GONADOTROPINE
IMMUNOLOGISCH
IE HCG-AQU/24STD



OESTROGENE
/µg /24STD

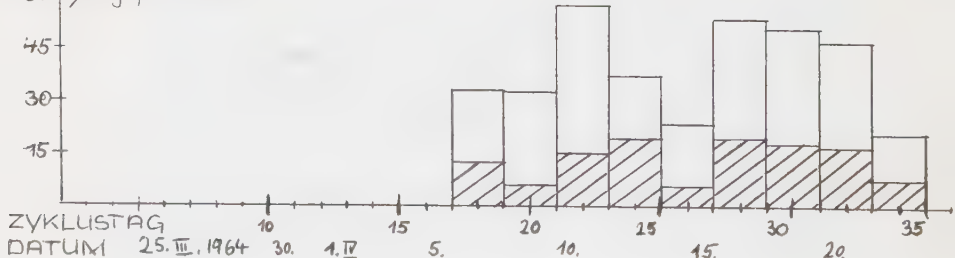


Abb.1 M.D., 34 J. alt, Zyklus 35/4-5 (Fall 1). Biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinaktivität sowie die Oestrogenausscheidung im Harn bei einem verlängerten biphasischen Zyklus.

Das Zeichen "<" auf einer Saule bedeutet "kleiner als ...".
Oestriolanteil der Oestrogene schraffiert. "M." = Menstruation.
"I" = Bereich der Vertrauensgrenzen.

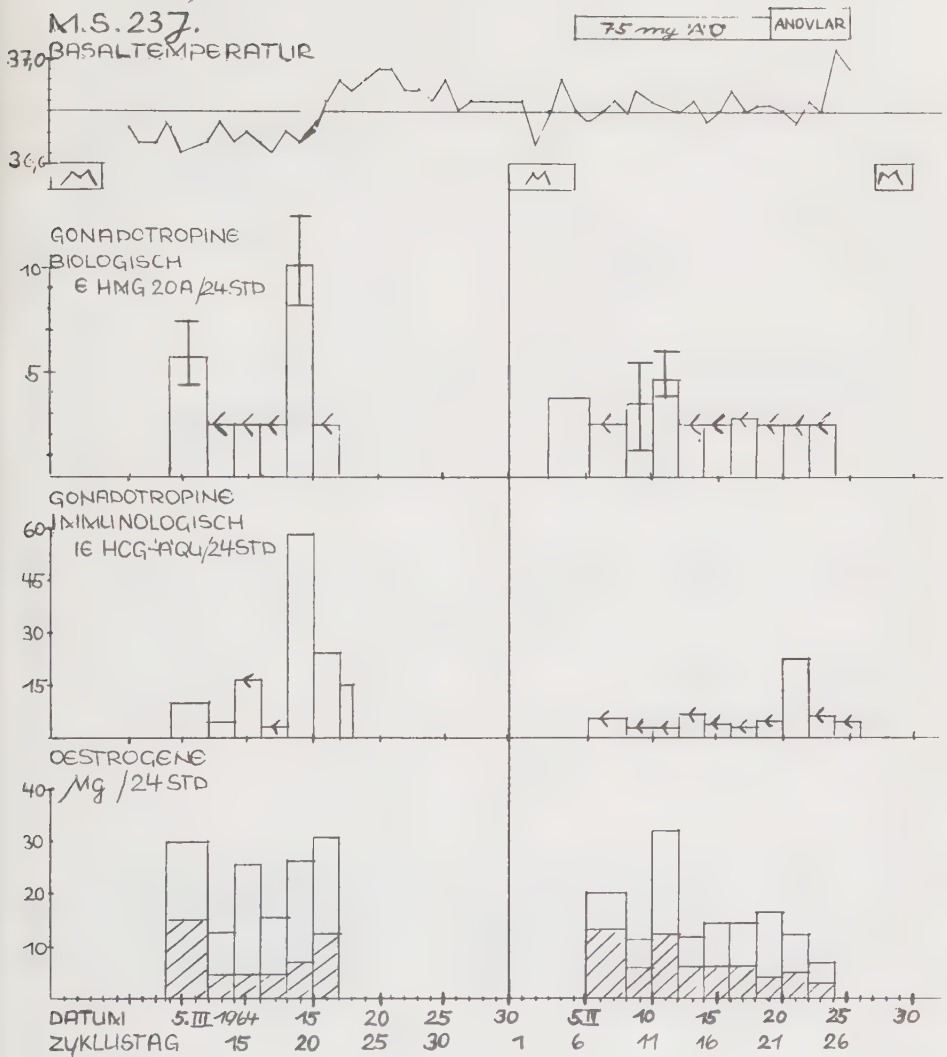


Abb.2 M.S., 23 J. alt, Zyklus 30/4-6 (Fall 2). Biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinaktivität sowie die Oestrogenausscheidung im Harn bei einem Zyklus mit verlängerter Follikelphase und einem Zyklus unter Behandlung mit Oestrogenen und Progestagenen nach der Sequential-Methode.
AÖ = Äthinyloestradiol.
Zeichenerklärung s. Abb. 1.

K.N. 237.

BASALTEMPERATUR

2,5 mg ANTA + 0,015 mg AÖ

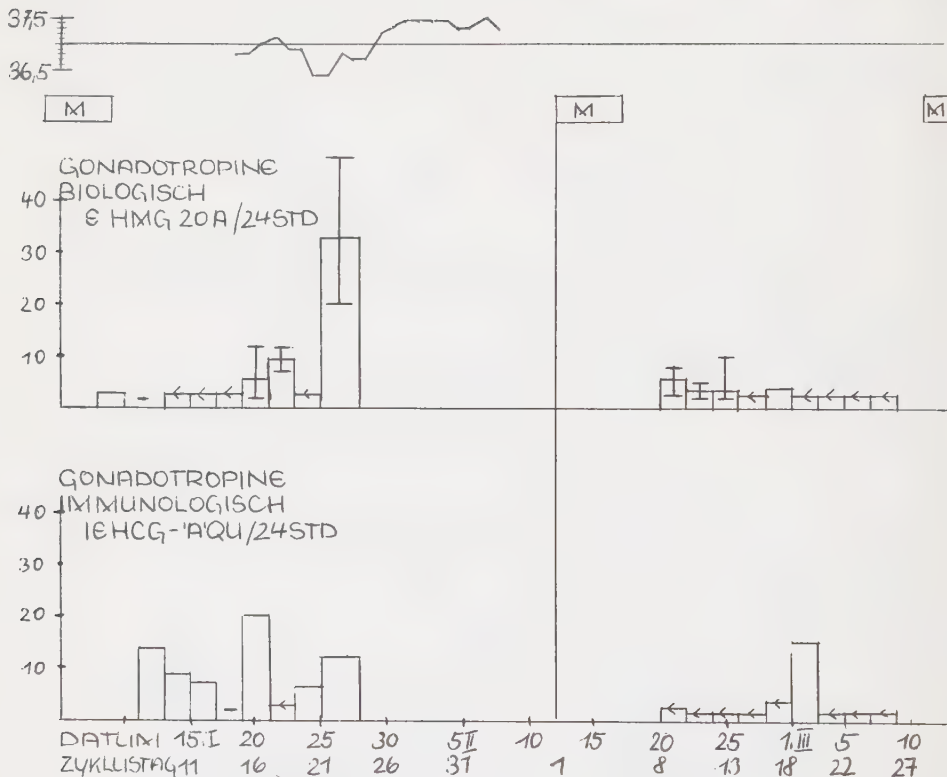


Abb.3 K.N., 23 J. alt, Zyklus 28/5-6 (Fall 3). Biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinaktivität in einem behandlungsfreien Zyklus nach Absetzen einer mehrmonatigen Therapie mit Oestrogenen und Progestagenen und in einem Zyklus unter Gabe des gleichen Medikaments (Etalontin). ANTA= Aethinylnortestosteronazetat, AÖ= Aethinylöestradiol. Zeichenerklärung s. Abb.1.

C.W. 40 J.

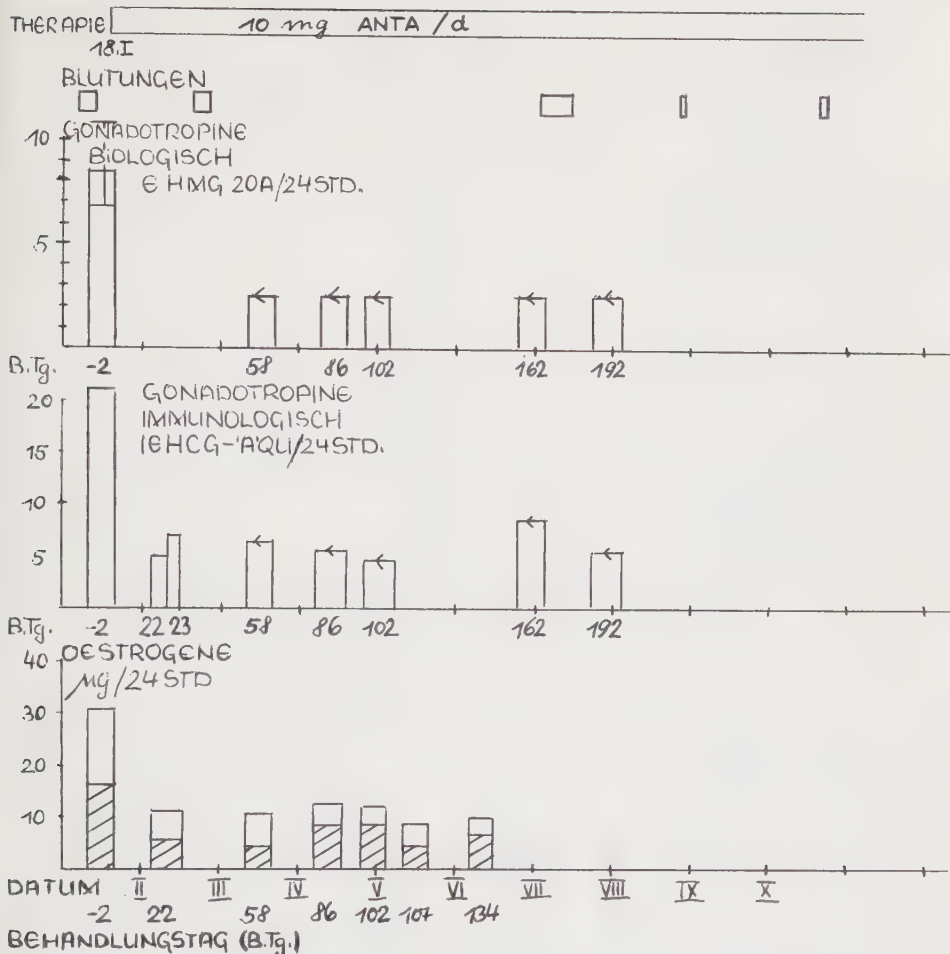


Abb 4 C.W., 40 J. alt, Zyklus 28/4-5 (Fall 4). Zustand nach beidseitiger Entfernung von Endometriosezysten der Ovarien. Biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinaktivität und Oestrogenausscheidung im Harn. ANTA = Aethinylnortestosteronazet. Zeichenerklärung s. Abb.1.

E. Pe. 417.

THERAPIE: ANTA

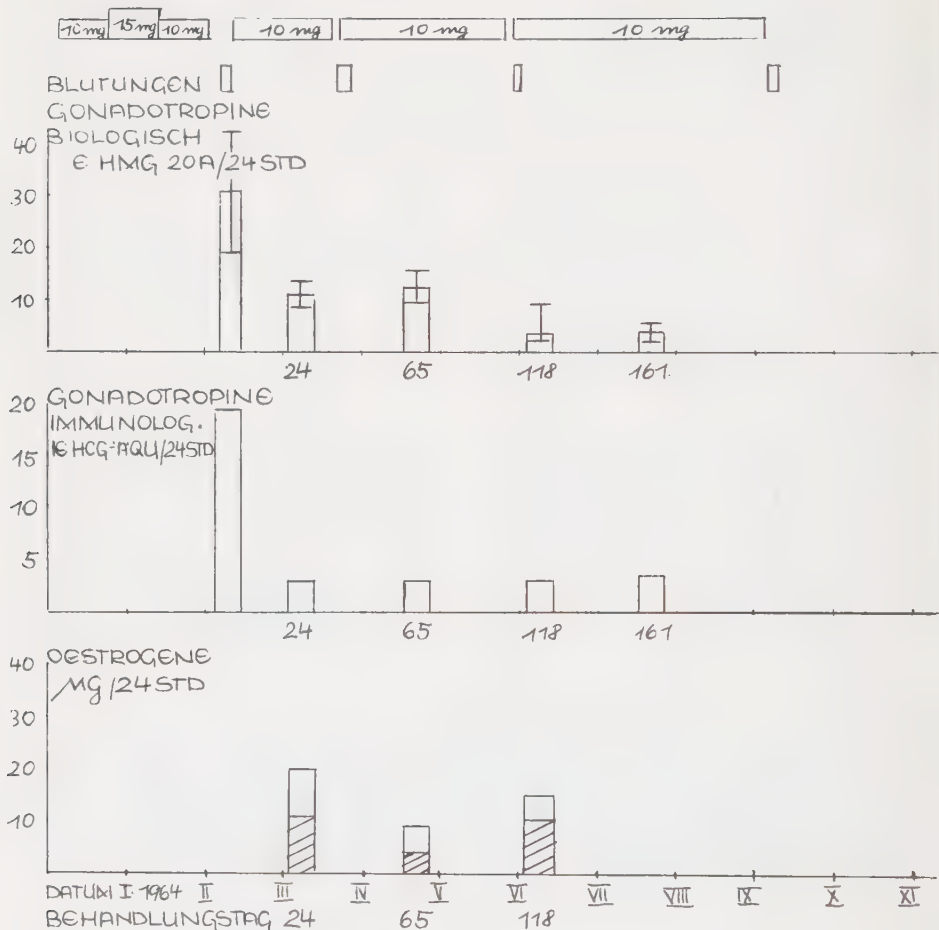


Abb. 5 E. Pe., Zyklus 28/5-6 (Fall 5). Zustand nach rechtsseitiger Adnektomie und Entfernung einer Endometriosecyste aus dem linken Ovarium. Biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinaktivität und Oestrogenausscheidung im Harn. Zeichenerklärung s. Abb. 1.

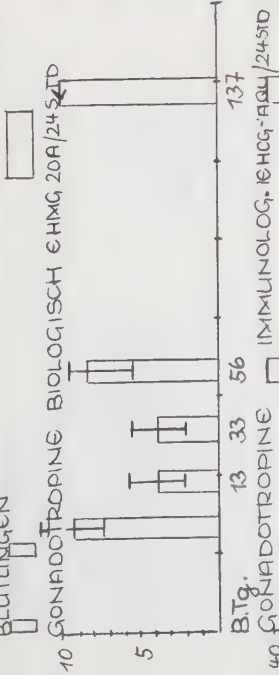
T.K. 307.

THERAPIE

5 mg 5 mg ETHINYLOSTRENOL / d. LYNDIOL

BLUTUNGEN

GONADOTROPINE BIOLOGISCH EHMIG 20A/24STD



B.Tg. GONADOTROPINE IMMUNOLOG. IE HCG-AQU/24STD



B.Tg. OESTROGENE, µg /24STD



B.Tg. BEHANDLUNGSTAG (B.Tg.)

Abb. 6 T.K., 30 J. alt, Zyklus 28/4-5 (Fall 6). 1960 adnektomie links. iologisch und immuno-

logisch bestimmte Gonadotropinaktivität und Oestrogenausscheidung im Harn.

Zeichenerklärung s. Abb.1.

M.A. 237. SEQUENTIAL

THERAPIE

5 mg 5 mg ETHINYLOSTRENOL / d. LYNDIOL

BLUTUNGEN

GONADOTROPINE BIOLOGISCH EHMIG 20A/24STD



GONADOTROPINE IMMUNOLOGISCH IE HCG-AQU/24STD



DATUM

Abb. 7 M.A., 23 J. alt, Zyklus 35-42-tägig (Fall 9), sek. Amenorrhoe bei endogen erhöhter Gonadotropin-

produktion. Biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinaktivität im Harn.

Zeichenerklärung s. Abb.1.

E.H. 337.
 THERAPIE
 ANOVLAR 5.-25 ZYKLUSTG.
 3x20mg ANT
 BLUTUNGEN

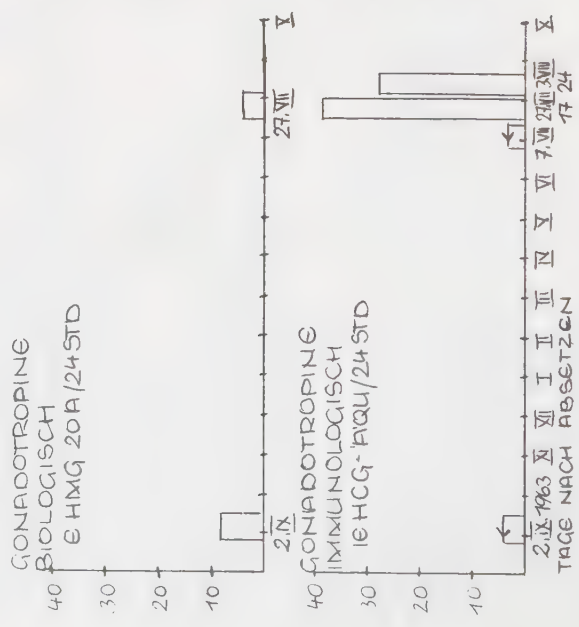


Abb. 8 E.H., 33 J. alt, Oligomenorrhoe (Fall 11). Biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinaktivität im Harn. ANT = Aethylnortestosteron. Zeichenerklärung s. Abb. 1.

R.B. 237.
 ANOVLAR 5.-25 ZYKLUSTG.
 15 ZYKLEN
 BLUTUNGEN

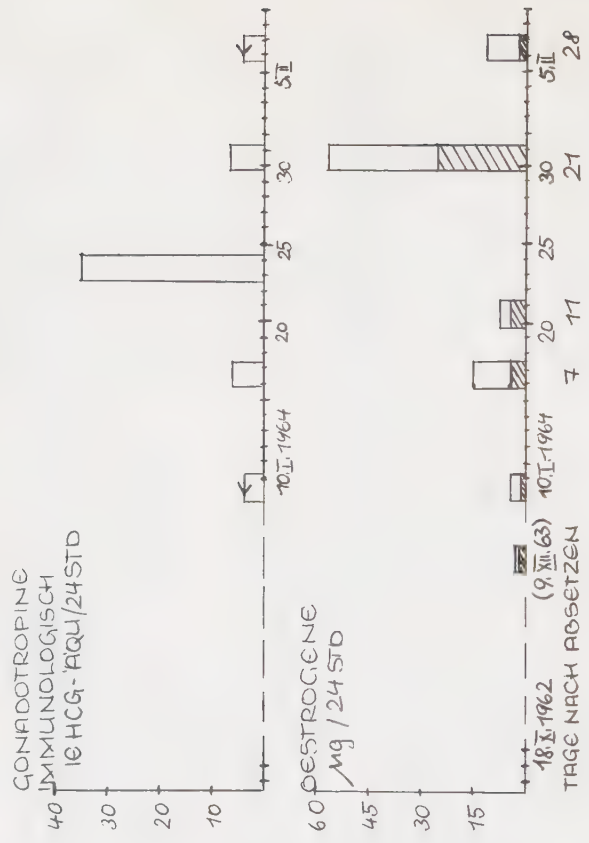


Abb. 9 R.B., 23 J. alt, juvenile Hypermenorrhoe (Fall 12) Biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinaktivität im Harn während und nach einer monatlichen zyklusgerechten Behandlung mit Oestrogenen und Progestagenen. Zeit der Behandlung nicht maßstabsgerecht. Zeichenerklärung s. Abb. 1.

E. W. 40 J.

THERAPIE

ANOVULAR 15 ZYKLEN

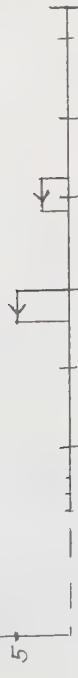
BLUTUNGEN



15 GONADOTROPINE

BIOLOGISCH

E HMG 20A/24 STD



15 GONADOTROPINE
IMMUNOLOGISCH

1E HCG - AQU/24 STD



45 OSTROGENE
/mg /24 STD

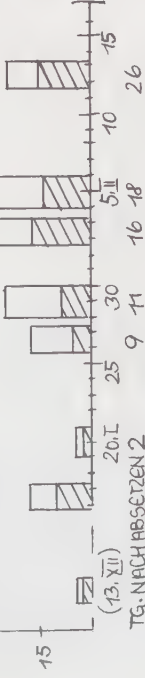


Abb 10 E.W., 40 J. alt, Zyklus 21-24-tägig (Fall 13). Biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinusscheidung im Harn und Oestrogene im Urin während und nach einer über 15 Monate durchgeführten zyklusgerechten Behandlung mit Oestrogenen und Progestagenen.

17.277.

THERAPIE

PSEUDOGRAVIDITÄT

BLUTUNGEN



15 GONADOTROPINE

BIOLOGISCH

E HMG 20A/24 STD



90 GONADOTROPINE
IMMUNOLOGISCH

1E HCG - AQU/24 STD



60 OSTROGENE
/mg /24 STD

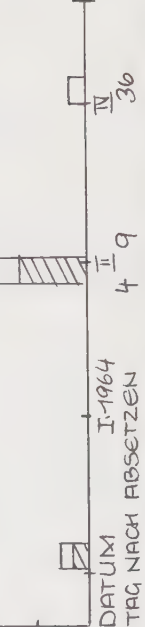


Abb 11 I.J., 27 J. alt, prim. Amenorrhoe (Fall 14). Biologisch und immunologisch bestimmte Gonadotropinaktivität und Oestrogenausscheidung im Harn vor, während und nach einer Scheinschwangerschaft. Zeichenerklärung s. Abb. 1.

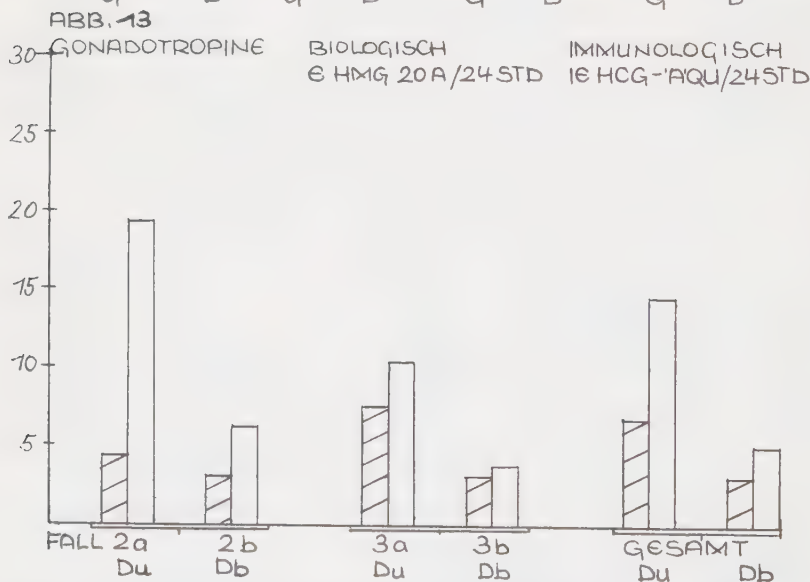
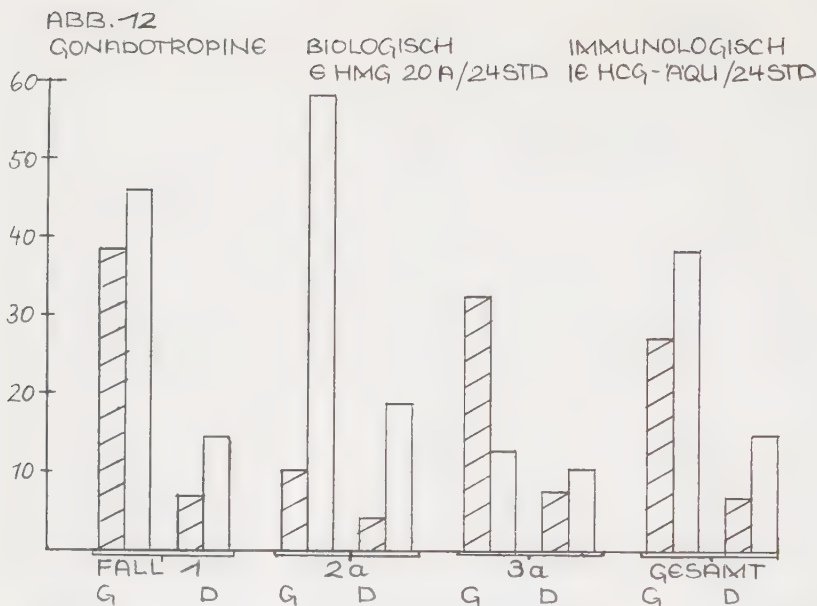


Abb. 12 zeigt eine Gegenüberstellung der auf biol. und imm. weg bestimmten Gonadotropingipfel ("G") der unbehandelten Zyklen 1, 2a und 3a gegenüber der durchschnittlichen Gonadotropinaktivität der genannten Zyklen ("D"). Sie zeigt weiterhin die entsprechenden Mittelwerte der 3 Zyklen 1+2a+3a ("Gesamt"). Die biologisch bestimmten Werte sind schraffiert dargestellt. Abb. 13 stellt einen Vergleich der Durchschnittswerte der unbehandelten Zyklen ("Du") 2a und 3a mit den Durchschnittswerten der Behandlungszyklen ("Db") 2b und 3b dar. Sie zeigt weiterhin eine Gegenüberstellung der Durchschnittswerte der 3 unbehandelten Zyklen 1+2a+3a zu denen der 2 Behandlungszyklen 2b+3b.

VII. LITERATUR

1. ALBERT, A.:
Procedure for routine clinical determination of urinary gonadotrophin.
Proc. Mayo Clin. 30, 552, 1955.
2. ALBERT, A., S. KELLY and J. KOBİ:
Studies on the biological characterization of human gonadotrophins.
I. Human pituitary gonadotrophin from urine of normal men, and
postmenopausal and castrated women.
J. Clin. Endocr. a. Metabolism 18, 843, 1958.
3. AMMON, R. und W. DIRSCHERL:
Fermente, Hormone und Vitamine.
Band II: Hormone, S. 566.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1960.
4. APOSTOLAKIS, M.:
Detection and estimation of pituitary gonadotrophins in human plasma.
J. Endocr. 19, 377, 1957.
5. APOSTOLAKIS, M. and J. A. LORAINÉ:
Renal clearance of pituitary gonadotropins in postmenopausal women.
J. Clin. Endocr. 20, 1437, 1960.
6. ARON, M.:
La fonction gonadotrope et l'hypophyse.
Physiologie et pathologie, Strasbourg méd., N. S., 5, 621, 1954.
7. ASCHHEIM, S.:
Über die Funktion des Ovariums.
Zschr. Geburtsh. u. Gynäkol. 90, 391, 1926.
8. ASCHHEIM, S. und J. ZONDEK:
Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon in Harn von
Schwangeren.
Klin. Wschr. 22, 1332, 1927.
9. ASCHNER, B.:
Über die Beziehung zwischen Hypophysis und Genitale.
Arch. Gynäk. 97, 200, 1912.
10. BERSIN, Th.:
Biochemie der Hormone.
Akad. Verlagsgesellschaft Geest u. Portig KG, Leipzig 1960.

11. BICKENBACH, W., G. DÖRING und C. HOSSFELD:
Experimentelle Frühovulation durch Cercixreizung beim Menschen.
Arch. Gynäk. 192, 412, 1960.
12. BORN, J.H., J.J. FINNEY and L.G. GOODWIN:
Biological Standardisation
London, Oxford Univ. Press, 1950.
13. BORTH, R., E. DICZFALUSY und H.D. HEINRICHS:
Grundlagen der statistischen Auswertung biologischer Bestimmungen.
Arch. Gynäk. 188, 497, 1957.
14. BORTH, R., B. LUNENFELD and H. de WATTEVILLE:
Activité gonadotrope d'un extrait d'urines de femmes en ménopause.
Experimentia (Basle) 10, 226, 1954.
15. BOUMAN, J.:
Het bepalen van gonadotrope hormonen in urine.
Algemeen statistisch gedeelte.
Bull. Soc. roy. Belge Gynéc. et Obstétr., N.S., 626, 1957.
16. BOURDEL, G. and C.H. LI:
The effect of rabbit antiserum to sheep pituitary ICSH in adult female rats.
Acta endocr. 42, 473, 1963.
17. BOUTE, J., A. FANARD et R. DEMOL:
Recherches par chromatographie sur papier d'impuretés oestrogéniques
dans différents extraits gonadotrophiques urinaires.
Bull. Soc. roy. Belge Gynéc. et Obstétr., N.S., 27, 619, 1957.
18. BOYDEN, S.V.:
The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid by
anti-protein sera.
J. exp. Med. 93, 107, 1951.
19. BRODY, S. and G. CARLSTÖM:
Elimination of HCG in biological fluids by complement fixation.
Lancet II 99, 1960.
20. BROWN, J.B. and H.A.F. BLAIR:
Urinary oestrogen metabolites of 19-norethisterone and esters.
Proc. roy. Soc. Med. 53, 433, 1960.
2. BUCHHOLZ, R.:
Die Harngonadotropine bei weiblichen Genitalkarzinomen und ihre Beein-
flussung durch Verabreichung von Keimdrüsenhormonen.
In: Symposium über Krebsprobleme, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-
Heidelberg, S. 80, 1961.

22. BUCHHOLZ, R.:
Neuere Erkenntnisse auf dem Gebiet der Sexualforschung und ihre Bedeutung für die Praxis.
Geb. Fra. 17, 581, 1957.
23. BUCHHOLZ, R.:
Quantitative Bestimmungen der gonadotropen Hypophysenhormone im Zyklus.
Geb. Fra. 8, 706, 1957.
24. BUCHHOLZ, R., L. NOCKE und W. NOCKE:
Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus von Ethinylnortestosteron bei der Unterdrückung der Ovulation.
Vortrag auf der III. Akad. Tagung für Geburtshilfe und Gynäkologie in Hamburg, Juni 1962.
25. BUCHHOLZ, R., NOCKE, L. und W. NOCKE:
The influence of gestagens on the urinary excretion of pituitary gonadotrophins, oestrogens, and pregnanediol in women in the menopause and during the menstrual cycle.
2. Symp. Internat. Fertil. Assoc. Brüssel, 2. u. 3.3.1963.
26. BUSTAMANTE, M., H. SPATZ und E. WEISSCHEDEL:
Die Bedeutung des Tuber Cinereum des Zwischenhirns für das Zustandekommen der Geschlechtsreifung.
Dtsch. med. Wschr. 68, 289, 1942.
27. BUTT, W.R. and A.C. CROOKE:
Chromatography of urinary gonadotrophins.
Ciba Found. Colloqu. Endocrinol. 5, 44, 1953.
28. CLAEßSON, L., B. HÖGBERG, B. ROSENBERG u. A. WESTMAN:
Crystalline human chorionic gonadotrophin and its biological action.
Acta endocr. (Copenh.) 1, 1, 1948.
29. DAUME, E., R. KAISER und W. GEIGER:
Zur immunhämatologischen Bestimmung hypophysären Gonadotropins aus dem Urin.
Klin. Wschr. 42:5, 246, 1964.
30. DICZFALUSY, E. und H.D. HEINRICHS:
Gonadotropine und ihre Bestimmung.
Arch. Gynäk. 187, 556, 1956.
31. DOUGLAS, M., J.A. LORAINE and J.A. STRONG:
Studies with 19-norethisterone oenanthate in mammary carcinoma.
Proc. roy. Soc. Med. 53, 427, 1960.

32. ECKSTEIN, P. and A.M. MANDL:
Effect of Norethynodrel on the ovarian response of the immature rat to gonadotrophic stimulation.
Endocrinology 71, 964, 1962.
33. v. EICKSTEDT und HASSELBLATT:
5. Symp. der Dtsch. Ges. für Endokrinologie, Freiburg (Brsg.) März 1957.
34. EVANS, H.M., M. SIMPSON, W. LYONS and K. TURPEINEN:
Anterior pituitary hormones which favour the production of traumatic uterine placentomata.
Endocrinology 28, 933, 1941.
35. FARRIS, E.J.:
A test for determining the time of ovulation and conception of a woman.
Amer. J. Obstet. Gynec. 52, 14, 1946.
36. FERIN, J.:
Medikamentös hervorgerufene hypo-östrogene Amenorrhoe mittels Methylöstrenolons oder Lynestrenols.
Acta endocr. (Copenh.) 38, 47, 1962.
37. FEVOLD, H.L.:
Extraction and standardisation of pituitary follicle-stimulating and luteinizing hormones.
Endocrinology 24, 435, 1939.
38. FINNEY, D.J.:
Statistical methods in biological assay.
London, Charles Griffin Edit. 1952.
39. FRAENKEL-CONRAT, H., C. LI, M. SIMPSON and H.M. EVANS:
Interstitial cell stimulating hormone I. Biological properties.
Endocrinology 27, 793, 1940.
40. GADDUM, J.H.:
Bioassays and mathematics.
Pharm. Rev. 5, 87, 1953.
41. GADDUM, J.A.:
Reports on biological standards
III. Methods of biological assay depending on quantal response.
Special Report Series Council, London, No. 13, 1933.

42. GEIGER, W. :
Über die Anreicherung von Gonadotropinen im Harn und über immun-hämatologische und biologische Gonadotropinbestimmungen im Harn bei Amenorrhoe und nach der Menopause.
Dissertationsschrift München 1964.
43. GÖRDES, W. :
Über die Methodik der Gonadotropinbestimmung und über die Gesamtgonadotropinausscheidung vor und nach Verabreichung von 9-brom-11-keto-progesteron.
Dissertationsschrift München 1963.
44. GOLDZIEHER, J., N.W. LIVINGSTON, J.N. MANAUTON and E. MOSES:
The use of sequential estrogen and progestin to inhibit fertility.
VII. Int. Conf. "Planned Parenthood", Singapore 1963.
45. GOLDZIEHER, J.W. u. E. RICE-WRAY:
Fertility following the termination of contraception with norethindrone.
Amer.J.Obstetr. a. Gynec. 84, 11, part I: 1474, 1962.
46. GORBMANN, A. :
Ultrafiltration of urine for collection and biological assay of extracted hypophyseal hormones.
Endocrinology 37, 177, 1945.
47. GUILLEMIN, R. :
Hypothalamic factors releasing pituitary hormones.
Rec. Progr. Horm. Res. 20, 89, 1964.
48. HARRIS, G.W. :
Hypothalamus and pituitary gland, with special reference to the posterior pituitary and labour.
Brit. Med. J. 21, 339, 1948.
49. HARRIS, G. and D. JAKOBSON:
Functional grafts of the anterior pituitary gland.
Proc. Roy Soc. 139 B, 20, 1951.
50. HELLER, C.G. und E.J. HELLER:
Gonadotrophic hormone: Clinical application of extraction methods for assay purposes.
Endocrinology (Spr.) 24, 319, 1939.
51. HERLANT, M. :
Sa dualité des cellules gonadotropes au niveau du lob antérieur de l'hypophyse.
Bull. Soc. roy. Belge Gynéc. et Obstétr., N. S., 28, 69, 1958.

52. HISAW, F.L. and E.B. ASTWOOD:
Physiology of the reproduction.
Ann. Rev. Physiol., Stanford Univ. 4, 503, 1942.
53. HOHLWEG, W.:
Beziehung des Hypophysenzwischenhirnsystems zu den Sexualhormonen.
Wiener Klin. Wschr. 73, 445, 1961.
54. HOHLWEG, W. und E. DAUME:
Über die Wirkung intrazerebral verabreichten Dienöstroldiacetats bei Ratten.
Endokrinologie 38, 46, 1959.
55. HOHLWEG, W. und K. JUNKMANN:
Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion des Hypophysenvorderlappens.
Klin. Wschr. 11, 321, 1932.
56. IGEL, H.:
Zur Frage der Inaktivierung des Follikelhormons.
Z. Geburtsh. 149, 329, 1958.
57. JOHNSEN, S.:
A clinical routine method for the quantitative determination of
gonadotropine in 24-h-samples.
Acta endocr. (Copenh.) 28, 69, 1958.
58. JOHNSEN, S.:
A clinical routine method for the quantitative determination of
gonadotropins in 24-h-urine samples.
II. Normal values for men and women at all age groups from prepuberty
to senescence.
Acta endocr. (Copenh.) 31, 209, 1959.
59. JOHNSEN, S.:
Studies on urinary gonadotrophins
I. Large scale preparation of highly active gonadotrophins from the urine
of postmenopausal women.
Acta endocr. (Copenh.) 20, 101, 1955.
60. JOHNSEN, S.:
Studies on urinary gonadotrophins.
II. Further purification of highly active gonadotrophins from urine of
postmenopausal women.
Acta endocr. (Copenh.) 20, 106, 1955.

61. JOHNSEN, S.:
In A. ALBERT: Human Pituitary Gonadotrophins, S. 229.
Springfield, Ill.
62. JOHNSEN, S. und C. HAMBURGER:
Untersuchungen über Harngonadotropine.
IV. Qualitative Unterschiede zwischen den internationalen Vergleichs-
präparaten für HMG und anderen Extrakten aus dem Harn von Frauen in
der Postmenopause.
Acta endocr. (Copenh.) 32, 497, 1959.
63. KAISER, R.:
Versuche zur klinischen Anwendung einer "Pseudogravidität".
Dtsch. med. Wschr. 81, 744, 1956.
64. KAISER, R. und E. DAUME:
Zur Methodik und Hormonausscheidung bei der medikamentösen
Ovulationshemmung.
Fortschr. Geburtsh. Gynäk., vol. 21, pp. 215-220
(Karger, Basel/New York 1965).
65. KAISER, R. und P. FINK:
Therapeutische Möglichkeiten mit progestativen Substanzen bei der
Myomatosis uteri.
Med. Klin. 56, 429, 1961.
66. KAISER, R., B. MACKERT und W. KEYL:
Die zeitliche Korrelation zwischen den Gonadotropin- und Oestrogen-
maxima und dem Basaltemperaturanstieg im Zyklus.
Arch. Gynäk. 199, 414, 1964.
67. KAIVOLA, S., K. KIISTALA and E. AXLSON:
Studies on serological pregnancy tests III.
Acta endocr. 42, 1963.
68. KARLSON, P.:
Kleines Lehrbuch der Biochemie, S. 289.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1962.
69. McKEAN, C.M.:
Preparation and use of antisera to human chorionic gonadotrophin.
Amer. J. Obstetr. Gynec. 80, 596, 1960.
70. KELLER, P.J.:
Die Bestimmung hypophysärer Gonadotropine im Urin.
Gynaecologia 156, 380, 1963.

71. KIDO, J.:
Die menschliche Placenta als Produktionsstätte des sogenannten Hypophysenvorderlappenhormones.
Zbl. Gynäk. 61, 1551, 1937.
72. KISTNER, R.W.:
Infertility with endometriosis.
Fertil. and Steril. 13, 3 : 237, 1962.
73. KISTNER, R.W.:
The use of newer progestins in the treatment of endometriosis.
Amer. J. Obstetr. Gynec. 75, 264, 1958.
74. KLINEFELTER, A.F., F. ALBRIGHT, and G.C. GRISWOLD:
Experience with a quantitative test for normal or decreased amounts of follicle stimulating hormone in the urine in endocrinological diagnosis.
J. clin. Endocrin. 3: 529, 1943.
75. LASCHET, U., W. HOHLWEG und D. BILZ:
Die Kybernetik des endokrinen Systems bei kombinierter Behandlung mit peripheren und glandotropen Hormonen.
Acta biol. et med. Germ. 6:2, 141, 1961.
76. LAURITZEN, Ch.:
Methoden, Möglichkeiten und klinische Bedeutung von Gonadotropinbestimmungen.
Med. Klin. 20, 822, 1963.
77. LEVIN, L. and H.H. TYNDALE:
The quantitative assay of follicle stimulating substances.
Endocrinology 21, 619, 1937.
78. LI, C.:
Protein hormones. In: Neurath and Bailey: The proteins chemistry, biological activity and methods.
Bd. II, S. 595. New York 1954.
79. LI, C.H., M.E. SIMPSON and H.M. EVANS:
ICSH II. Method of preparation and some physico-chemical studies.
Endocrinology 27, 803, 1940.
80. LI, C., M.E. SIMPSON and H.M. EVANS:
Isolation of pituitary follicle-stimulating hormone (FSH).
Science 109, 445, 1949.

81. LINDER, A.:
Statistische Methoden, 2. Aufl.
Basel: Birkhäuser 1951.
82. LORAINÉ, J.A.:
Diskussion: "Mechanisms of ovarian inhibition by progestogens".
Int. Fertility Association, Brüssel 1963.
83. LORAINÉ, J.A.:
Some observations on the effect of anti-ovulatory compounds on the hormone excretion in human subjects. Symposium on Ovarian Inhibition by Progestogens in the Woman. Second Europ. Meeting of the Int. Fert. Ass., Bruxelles 1963.
84. LORAINÉ, J.A.:
The clinical Application of Hormone Assay.
Edinburgh 1958.
85. LORAINÉ, J.A. and E.T. BELL:
In: Proceedings of the International Congress on Hormone Steroids.
New York, Academic Press.
86. LORAINÉ, J.A. and E.T. BELL:
Oral progestational agents.
Lancet 7314:902, 1963.
87. LORAINÉ, J.A. and J.B. BROWN:
Further observations on the estimation of urinary gonadotrophins in nonpregnant human subjects.
J. clin. Endocr. a. Metab. 16, 1180, 1956.
88. LORAINÉ, J.A. and J.B. BROWN:
Some Observations on the estimation of gonadotrophins in human urine.
Acta endocr. (Copenh.) 17, 250, 1954.
89. LORAINÉ, J.A. and J.B. BROWN:
The assay of urinary gonadotrophins from men and from normally menstruating women in terms of Human Menopausal Gonadotrophins (HMG).
J. of Endocr. Proc. in the Soc. for Endocr. 13, I, 1955.
90. LORAINÉ, J.A., J.B. BROWN and K. FOTHERBY:
Effect of ethinyl nortestosterone (Norethisterone) acetate on excretion of estrogens, pregnanediol and gonadotrophins during the menstrual cycle.
Aus A. ALBERT: Human Pituitary Gonadotrophins, S. 222.
Springfield, Ill.

91. LUNENFELD, B.:
The ovarian response to exogenous human gonadotrophins alone and during simultaneous administration of progestins.
Symposion on Ovarian Inhibition by Progestogens in the Woman.
Sec. Europ. Meeting of the Int.Fert.Assoc., Brussels 1963.
92. LUNENFELD, B., S. SULIMOVICI und E. RABAU:
Mechanism of action of anti-ovulatory compounds.
J. clin. Endocr. 23, 4: 391, 1963.
93. MACKERT, B.:
Untersuchungen über die Gesamtgonadotropinausscheidung während des mensuellen Zyklus.
Dissertationsschrift München 1963.
94. MARTIN, L. and K. CUNNINGHAM:
Inhibition of human pituitary gonadotropin output by ethinyl nortestosterone.
In: GRAY, C.H. and A.L. BACHARACH: Hormones in Blood
Academic Press, New York and London.
95. MURATA, L. und K. ADACHI:
Über die künstliche Erzeugung des Corpus luteum durch Injektion der Placentarsubstanz aus frühen Schwangerschaftsmonaten.
Zschr. Geburtsh. (Stuttgart) 92, 45, 1928.
96. OBER, K.:
aus LABHARDT: Klinik der inneren Sekretion.
Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg.
97. PHILIPP, E.:
Die Bildungsstätte des "Hypophysenvorderlappenhormons" in der Gravidität.
Zbl. Gynäk. 54, 1858, 1930.
98. PINCUS, G., J. ROCK:
In APPLEZWEIG, N.: Steroid Drugs, S. 187.
McGraw-Hill Book Company Inc., New York 1962.
99. PURVES, H.D. and W.E. GRIESBACH:
The site of follicle stimulating and luteinising hormone production in the rat pituitary.
Endocrinology 55, 785, 1954.
100. van REES, G.P.:
zit. nach GRAY, C.H. and A.L. BACHARACH: Hormones in Blood.
Academic Press, New York and London.
Acta physiol. pharmacol. neerl. 8, 180, 1959.

101. RICHTER, R.H.H.:
Bericht über die am 2. und 3. März in Brüssel abgehaltene europäische Tagung der International Fertility Association.
Gynaecologia, 156, 306, 1963.
102. RICHTER, R.H.H. und W.E. SCHREINER:
Die temporäre hormonale Sterilisierung der Frau und ihre Problematik.
Therap. Umschau 20, 489, 1963.
103. RIGAS, D.A., C.A. PAULSEN and C.G. KELLER:
Purification of gonadotrophins derived from urine and pituitary glands of human beings. Observations on their electrophoretic behavior and biological activity.
Endocrinology 62, 738, 1958.
104. SAUNDERS, F.J.:
Some notes on the mode of action of norethynodrel in preventing fertility in rats.
Acta endocr. 46, 157, 1964.
105. SCHNEIDER, W.G. and H. FRAHM:
Über die Gonadotropinextrakte des klinischen Laboratoriums (hypophysäre und choreale).
Klin. Wschr. 289, 1961.
106. SEGALOFF, A. and S.L. STEELMAN:
The human gonadotrophins.
Rec. Progr. Hormone Res. 15, 127, 1959.
107. SIMPSON, M.E., C.H. LI, and H.M. EVANS:
Biological Properties of Pituitary Interstitial-Cell-Stimulating Hormone. (ICSH)
Endocrinology (Spr.) 30, 969, 1942.
108. SKREB, N.:
Untersuchungen über die äußeren Ovulationsfaktoren bei der Fledermaus.
Naturw. 41, 484, 1954.
109. SMITH, Ph.:
Further studies on pituitary responses to oxydative inactivation products of estrone.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 24, 4, 1927.
110. STEWARD, J.:
Hormone secretion by human placenta grown in eyes of rabbits.
Amer. J. Obstetr. 61, 990, 1951.

111. SUEKIRO, M., M. KIDOKOVO and T. SATO:
Studies on the bioassay of pregnant mare serum gonadotrophic hormones using immature female mice.
Endocrinol. jap. 2, 175, 1955.
112. SWINGLE, S.M. and A. TISELIUS, zit. n. 28
Biochemic J. 48, 171, 1951.
113. TIETZE, K.:
Zur Genese und Prognose der Notstandsamenorrhoe.
Zbl. Gynäk. 377, 1948.
114. UFER, J.:
Hormontherapie in der Frauenheilkunde, S. 36.
Berlin 1955.
115. UFER, J.:
Therapie mit der durch Sexualhormone erzielten Pseudogravidität.
Münch.med.Wschr. 103, 1982, 1962.
116. VANSELOW, M.:
Die Gonadotropinausscheidung in Harn bei Frauen während des Klimakteriums.
Dissertationsschrift München 1963.
117. VIERMEISEL, B.:
Die Ultrafiltration zum Nachweis hypophysärer Gonadotropine im Harn.
Zbl. Gynäk. 83, 1915, 1961.
118. WAGNER, R.:
Über Probleme biologischer Regelung.
Dtsch.med.Wschr. 83, 1710, 1958.
119. WALTER, K. und S. WYSOCKI:
Über die durch unspezifische Substanzen bedingte Änderung der quantitativen und qualitativen Wirksamkeit von Gonadotropinen bei der biologischen Aktivitätsbestimmung.
Acta endocr. 38, 181, 1961.
120. WEISER, P.:
Zur Bestimmung der hypophysären Gesamtgonadotropine im Urin mit dem Mäuse-Uterus-Test.
Med. Klin. 59:29, 1159, 1964.
121. WENIG, G.:
Die Gonadotropinausscheidung bei sekundärer Amenorrhoe.
Dissertationsschrift München 1964.

122. WERTH, G.:
Die gonadotropen Hormone.
Arzneimittelforschung 12, 735, 1955.
123. WESTMANN, A.:
Die übergeordnete Regulation des Cyclus.
Arch. Gynäk. 183, 131, 1952.
124. WESTMANN, A. und D. JAKOBSON:
Endokrinologische Untersuchungen an Ratten mit durchtrenntem
Hypophysenstiel.
Acta obstetr. et gynec. Scand. 18, 99, 1938.
125. WIDE, L.:
An immunological method for the assay of HCG.
Acta endocr., Suppl. 70, 1962.
126. WIDE, L. and C.A. GEMZELL:
An immunological pregnancy test.
Acta endocr. 35, 261, 1960.
127. WIDE, L. and C.A. GEMZELL:
Immunological determination of pituitary luteinizing hormone in the
urine of fertile and postmenopausal women and adult men.
Acta endocr. 39, 539, 1962.
128. ZONDEK, B.:
Über die Hormone des Hypophysenvorderlappens: Darstellung des
Follikelreifungshormons (Prolan A). Methodik der Klinischen Harn-
analyse zum Nachweis des Prolan A.
Klin. Wschr. 9, 1207, 1930.
129. ZONDEK, B. und S. ASCHHEIM:
Ei und Hormon.
Klin. Wschr. 1321, 1927.

Herrn Professor B i c k e n b a c h danke ich für die Möglichkeit, an seiner Klinik arbeiten zu dürfen.

Herrn Professor K a i s e r sage ich meinen Dank für die Überlassung des Themas und für seine wertvolle Hilfe.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Dr. D a u m e für seine Ratschläge bei der Durchführung der Versuche und seine Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit.

L e b e n s l a u f

Als Sohn des Realschulrektors Heinrich Engel und seiner Ehefrau Christa, geb. Viétor, wurde ich am 9. Mai 1941 in Marburg/Lahn geboren.

Von 1947 bis 1951 besuchte ich die Volksschule in Katlenburg/Harz und von 1951 bis zur Reifeprüfung im Jahre 1960 das Gymnasium Corvinianum in Northeim/Han. 1958/59 war ich für ein Jahr in den USA als Gastschüler der University School in Cleveland (Ohio) und erhielt dort zum Abschluß das Certificate of Graduation.

Im Sommersemester 1960 nahm ich das Medizinstudium an der Georg-August-Universität Göttingen auf. Nach der naturwissenschaftlichen Vorprüfung im Jahre 1961 setzte ich das Studium an der Philipps-Universität Marburg vom Sommersemester 1961 bis Wintersemester 1962/63 fort und legte dort während dieser Zeit die ärztliche Vorprüfung ab.

Seit dem Sommersemester 1963 studiere ich an der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Das gegenwärtige Sommersemester 1965 ist mein 11. Studiensemester; ich beabsichtige, im Herbst 1965 das Staatsexamen abzulegen.

